COUNTWAY LIBRARY
HC 6EB3

BOSTON
MEDICAL LIBRARY
8 THE FENWAY

NAUNYN-SCHMIEDEBERGS

ARCHIV

FÜR

EXPERIMENTELLE PATHOLOGIE

UND

PHARMAKOLOGIE

UNTER MITWIRKUNG VON FACHGENOSSEN

HERAUSGEGEBEN VON

DR. L. KREHL † UND DR. W. STRAUB

EMER. PROF. DER SPEZIELLEN PATHOLOGIE UND THERAPIE IN HEIDELBERG

PROF. DER PHARMAKOLOGIE IN MÜNCHEN

192. BAND

MIT 186 TEXTABBILDUNGEN

BERLIN

VERLAG VON F. C. W. VOGEL

1939

29710

CATALOGUED
OCT 21 1939
F. K. M.

BOSTON MEDICAL
OCT 21 1939
LIBRARY

Printed in Germany

Inhalt des 192. Bandes.

Seite

Albath, Wolfgang s. Wolfgang Heubner.
Bergstermann s. Labes.
Böger, A. s. K. Wezler.
Brückmer, L. s. P. Martini.
Bundschuh, H. E. s. G. Kuschinsky.
Cremer, E., Veränderungen im Fett-, Wasser- und Trockensubstanzgehalt im Fettgewebe von Ratten unter verschiedenen Ernährungsbedingungen. Mit 2 Textabbildungen 573
Domenjoz, R., und **A. Fleisch,** Venenwirkung kreislaufaktiver Pharmaca Mit 4 Textabbildungen 645
Dominicus, K. s. P. Martini.
Druckrey, H., Über Bedingungen der oestrogenen Wirkung 85
Dybing, Ottar s. Klaus Hansen.
Erbacher, Kurt s. Paul Grumbrecht.
Fischer, R. und **Toth, D.,** Über einige synthetische Stoffe mit saponinähnlicher Wirkung 472
Fleisch, A. s. R. Domenjoz.
Forst, A. W., Morphin und Dihydrodesoxymorphin, verglichen mittels einer neuen Methode der Motilitätsmessung. Mit 12 Textabbildungen 257
Forst, A. W. und **Kanda, Zengo,** Über die Wirkung der Solanaceenalkaloide unter Berücksichtigung ihrer optischen Isomerie und ihrer Spaltprodukte 405
Grumbrecht, Paul, und **Arnold Loeser** (unter Mitarbeit von **Kurt Erbacher**), Der Uterus und seine innersekretorische Bedeutung für den normalen Ablauf der Ovarialfunktionen. Mit 5 Textabbildungen 202
Guntermann, Adolf, Die Kombinationswirkung von Novocain und Harnstoff am motorischen Nerven des Frosches 715
Haas, Hans T. A., Untersuchungen über die pharmakologische Beeinflussung vegetativer Zentren. II. Mitteilung 117
Haas, Hans T. A., Ascorbinsäure und Fieber 331
Haas, Hans T. A., Untersuchungen über die pharmakologische Beeinflussung vegetativer Zentren. III. 350
Hahn, Fritz, Digitaliskumulation und Herzleistung. (Vergleichende Untersuchungen an Katzen und Hunden über die Nachwirkungen kleiner, wiederholt verabreichter Digitoxindosen.) Mit 5 Textabbildungen 499
Hansen, Klaus und **Dybing, Ottar,** Einige orientierende Versuche über die narkotische Stärke von Deutero-Äthyläther ($C_2D_5OC_2D_5$) im Vergleich mit Äthyläther 600
Hartmann, Max, und **Hans Isler,** Chemische Konstitution und pharmakologische Wirksamkeit von in 2-Stellung substituierten Imidazolinen. Mit 10 Textabbildungen 141
Hausberger, F. X., Über Veränderungen des Fettumsatzes im entnervten Fettgewebe. Mit 1 Textabbildung 70
Hausberger, F. X. und **Neuenschwander-Lemmer, N.,** Kohlehydratumsetzungen im entnervten Fettgewebe 530
Heim, Fritz, Der Einfluß von Harnstoff und Narkotica auf die Acetylcholinwirkung am Froschherz. Mit 7 Textabbildungen 1

Seite

Heim, Fritz, Änderung der Acetylcholinwirkung durch Adsorption an Eiweißkörper. Mit 6 Textabbildungen 276

Heubner, Wolfgang und **Albath, Wolfgang,** Über die entzündungswidrige Wirkung des Rein-Azulens aus Matricaria Chamomilla L. Mit 3 Textabbildungen 383

Hinsberg, K., Über die Ausscheidung von parenteral zugeführtem Cardiazol aus dem Organismus 90

Hundhausen, Gerhart, Über den Einfluß verminderter Nahrungszufuhr auf Schilddrüse und thyreotropes Hormon des Hypophysen-Vorderlappens. Mit 3 Textabbildungen 634

Hundhausen, Gerhart, Über die Beziehungen zwischen Avitaminose-B_1 und gonadotropem Hormon des Hypophysenvorderlappens. Mit 1 Textabbildung 670

Hundhausen, Gerhart s. Ernst Schulze.

Isler, Hans s. Max Hartmann.

v. Issekutz, jun., Béla, Über die Kreislaufwirkung des Oxyphenyl-β-Isopropylamin. Mit 4 Textabbildungen 414

Jaretzky, Robert und **Neuwald, Fritz,** Über die diuretische Wirkung des ätherischen Öles der Radix Ononidis bei Ratten 586

Jung, Fritz, Studien über Methämoglobinbildung. XIV. Mitteilung: Über die Rückbildung des Methämoglobins bei Gegenwart von Alkohol. Mit 5 Textabbildungen 464

Kanda, Zengo, Darmwirkungen intravenös einverleibter salinischer Abführmittel. Mit 5 Textabbildungen 64

Kanda, Zengo s. A. W. Forst

Kayser, Hans-Wolfgang, Der Einfluß des Kohlenoxyds auf vasomotorische Reaktionen. Mit 3 Textabbildungen 625

Keeser, Ed., Über die Wirkungsweise organischer Nitroverbindungen.. 618

Kellner, H., Zur Histopathologie der Knochen bei chronischer experimenteller Fluorverabreichung. Mit 11 Textabbildungen 549

Keßler, Rolf und **Tischendorf, Walter,** Fluoreszenz-Untersuchungen mit dem Thielschen Fluoreszenz-Photometer an menschlichen Blutseren. Mit 1 Textabbildung 590

Kirchmann, L. L., Experimentelle Untersuchungen über die Entgiftung von Chinidin durch Sympatol. Mit 4 Textabbildungen..... 639

Klobusitzky, D. von und **König, P.,** Biochemische Studien über die Gifte der Schlangengattung Bothrops. VI. Mitteilung: Kurzer Bericht über verschiedene, in den Jahren 1936—37 gewonnene Versuchsergebnisse. Mit 1 Textabbildung..... 271

Klotz, Rud., Prinzipielle und kritische Stellungnahme zur experimentellen Auswertung kreislaufaktiver Stoffe 252

König, P. s. D. von Klobusitzky.

Kollath, Werner, Das Wachstum und der Zellersatz in der Vitaminforschung. XIII. Mitteilung: Stoffwechsel-Untersuchungen bei einseitiger Vitamin B_1-Zufuhr. Mit 1 Textabbildung 26

Komlós, E. s. A. Simon.

Krauskopf s. Labes.

Kull, J., Strophanthinwirkung und cholinergischer Mechanismus am Herz. Mit 5 Textabbildungen 447

Kuschinsky, G., Über den Einfluß des Wassers und des Novasurols auf den Hormongehalt des Hypophysenhinterlappens..... 536

Kuschinsky, G., und **H. E. Bundschuh,** Über eine diuretische und Kochsalz ausschwemmende Substanz in Hypophysenhinterlappen-Präparaten. Mit 3 Textabbildungen 683

Seite

Labes, Krauskopf und **Bergstermann,** Fällungsreaktionen von Chinolin und Chinolinsäureimid mit Phenolsubstitutionsprodukten. Mit 2 Textabbildungen 603

Lerche, E., Über die Veränderungen der Wasserstoffionenkonzentration des Blutes im experimentellen Kreislaufschock. Mit 4 Textabbildungen 309

Lerche, E., und **Arnold Weiß,** Über die Bedeutung der Leber für den Plasmaverlust des Blutes im experimentellen Histamin- und Peptonschock 676

Lindner, Werner, Untersuchungen zur Kumulation der Digitaliskörper... 155

Lindner, Werner, Über die Kumulation der Genine von herzwirksamen Glykosiden 169

Linnemann, Heinz, Über den Einfluß antithyreotroper Substanzen auf Schilddrüse und Hypophysenvorderlappen bei der experimentellen Kohlenoxydhyperthyreose. Mit 6 Textabbildungen 300

Loeser, Arnold s. Paul Grumbrecht.

Macovski, Eufrosine s. Eugen Macovski.

Macovski, Eugen und **Macovski, Eufrosine,** Untersuchungen über die Permeabilität lebender Membranen. VIII. Wirkung der Adsorptionserscheinungen auf die Penetration des Saponins in die Zellen des Kiemenepitheliums von „Atherina hepsetus L.". Mit 1 Textabbildung 321

Martini, P., in Gemeinschaft mit **L. Brückmer, K. Dominicus, A. Schulte** u. **A. Stegemann.** Homöopathische Arzneimittel-Nachprüfungen. II. Bryonia 131

Martini, P. in Gemeinschaft mit **Brückmer, L., Dominicus, K., Schulte, A.** und **Stegemann, A.,** Homöopathische Arzneimittel-Nachprüfungen. Mit 1 Textabbildung. III. Schwefel 425

Möller, H., Zur Toxikologie des p-Sulfanilamido-acetophenons 708

Musehold, W. s. W. Riechert.

Neuenschwander-Lemmer, N. s. F. X. Hausberger.

Neuwald, Fritz s. Robert Jaretzky.

Nobile, Fr. s. Fr. Uhlmann.

Ortmann, P., Die Wellenlängenabhängigkeit der reduktionsbeschleunigten Wirkung des Lichtes in der Haut. Mit 1 Textabbildung 96

Riechert, W. und **Schipkus, E.,** Blutdruckversuche mit Adrenalin und Azetylcholin. Mit 4 Textabbildungen 372

Riechert, W. und **Musehold, W.,** Beitrag zum Wirkungsmechanismus des Azetylcholins. Mit 2 Textabbildungen 524

Riedel, Herbert, Studien über Methämoglobinbildung. XIII. Mitteilung: Pyridin. Mit 2 Textabbildungen 39

Risi, Antonio, Über den Einfluß des Broms auf die physikalisch-chemischen Konstanten des Blutes und auf Arneths Kernschema. Mit 3 Textabbildungen 99

Rühl, A., Sauerstoffverbrauch und Wirkungsgrad des insuffizienten Herzens. Methodische Fragen. (Zugleich eine Erwiderung auf die Arbeit von M. B. Visscher.) 109

Schlegel, Helmut, Über arekanußhaltige Wurmmittel. Mit 11 Textabbildungen 389

Schipkus, E. s. W. Riechert.

Scholz, J., Über einige Verbesserungen und Neukonstruktionen von Instrumenten und Apparaten. Mit 5 Textabbildungen 544

Seite

Schulte, A. s. P. Martini.

Schulze, Ernst, und **Hundhausen, Gerhart,** Über die Beziehungen zwischen Schilddrüse und Hypophysenvorderlappen bei A-Avitaminose und A-Hypervitaminose. Mit 3 Textabbildungen 43

Schulze, Ernst, und **Gerhart Hundhausen,** Über den Einfluß der B_2-Avitaminose auf Schilddrüse, Hypophysen-Vorderlappen und Nebenniere. Mit 3 Textabbildungen 664

Simon, A., und **E. Komlós,** Über die Pharmakologie der gefäßverengernden Stoffe der Blutseren. II. Quantitative Untersuchungen über die gefäßverengernden Stoffe der Blutseren und aus ungeronnenem Gesamtblut hergestellter Extrakte unter verschiedenen Bedingungen. Mit 5 Textabbildungen 701

Sós, Josef, Trennung der zentralnervösen und der peripheren Thyroxinwirkungen. Mit 2 Textabbildungen 78

Sós, Josef, Über die Bedeutung außerpankreatischer Faktoren für die diabetische Stoffwechselstörung. Mit 4 Textabbildungen 457

Stegemann, A. s. P. Martini.

Švec, Franz, Die enterale Resorption von g-Strophanthin und ihre Beeinflußbarkeit durch Digitonin. I. Mitteilung 18

Tischendorf, Walter s. Rolf Keßler.

Toth, D. s. R. Fischer.

Triendl, E., Wirkung von Coffein und chlorogensaurem Kali-Coffein auf die Spontan-Motilität von Mäusen. Mit 11 Textabbildungen 53

Uhlmann, Fr., und **Fr. Nobile,** Verbesserte Versuchsanordnung für Arbeiten mit dem isolierten Säugetierherzen. Mit 6 Textabbildungen 189

Verleger, R. s. R. v. Werz.

Voigt, Rudolf, Ein Verfahren zur Beobachtung vasomotorischer Wirkungen an der Froschlunge und einige damit erzielte Ergebnisse 179

Voss, H. E., Die angebliche oestrogene Wirkung des Yohimbins 570

Walther, G., Kohlenmonoxydvergiftung und Magensaftsekretion. Mit 3 Textabbildungen 361

Weiß, Arnold s. E. Lerche.

Werz, R. v. und **Verleger, R.,** Ein einfaches Verfahren der zahlenmäßigen Bewertung sedativer Effekte. Mit 5 Textabbildungen 292

Wezler, K., und **A. Böger,** Zur experimentellen Auswertung kreislaufwirksamer Stoffe am Menschen. (Eine Erwiderung auf die „Kritische Stellungnahme" von R. Klotz) 254

Zain, H., Die Beeinflussung der Hyperthyreose männlicher und weiblicher Ratten durch Kastration und große Follikelhormonmengen 486

Berichtigung 130

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Marburg.

Der Einfluß von Harnstoff und Narkotica auf die Acetylcholinwirkung am Froschherz.

Von

Fritz Heim.

Mit 7 Textabbildungen.

(Eingegangen am 10. Oktober 1938.)

Eine heutige Auffassung vom Wesen des Erregungsvorgangs geht von den zahlreichen Beobachtungen[1] aus, daß sowohl das überlebende Organ als auch die einzelne Zelle während der Funktion, d. h. im Erregungszustand, eine erhöhte Permeabilität aufweisen. Als Ursache der Permeabilitätssteigerung wird angenommen, daß die den Erregungsvorgang begleitenden Ionenkonzentrationsänderungen an den Zellgrenzflächen eine Änderung im physikalisch-chemischen Zustand der die Zellgrenzflächen aufbauenden Kolloide hervorrufen, die eine Auflockerung bzw. Permeabilitätssteigerung bewirkt. Es tritt vom Standpunkt der Membrantheorie der Erregung[2] aus gesehen dann eine Erregbarkeitsverminderung der Zelle ein, wenn durch bestimmte von außen hervorgerufene Änderungen im Kolloidzustand der Zellgrenzfläche eine Verdichtung zustande kommt, die die mit der Erregung einhergehende Auflockerung bzw. Permeabilitätssteigerung erschwert. Umgekehrt beruht eine Erregbarkeitssteigerung darauf, daß, wenn die Zellmembran eine Auflockerung erfahren hat, ihre Ansprechbarkeit auf einen Reiz erhöht ist, so daß die den Erregungsvorgang begleitende Permeabilitätssteigerung leichter zustande kommen kann. Wenn aber die Auflockerung der Zellgrenzschicht ein gewisses Maß überschritten hat, dann kann die für den Reizerfolg nötige Permeabilitätssteigerung nicht mehr weiter zunehmen, und die Erregbarkeit nimmt ab, bzw. sie erlischt. Frühere Untersuchungen von uns[3] haben gezeigt, daß es möglich ist, durch Harnstoff das Quellungsvermögen und die Permeabilität von Muskelgewebe zu erhöhen. Andererseits kann durch Narkotica eine Entquellung und Permeabilitätsverminderung des Muskelgewebes hervorgerufen werden. Es ist anzunehmen, daß die Beeinflussung des Quellungszustandes und der Permeabilität durch Harnstoff bzw. Narkotica, die in unseren Versuchen am ganzen Muskel beobachtet wurde, auch für die Zellgrenzflächen der einzelnen Organzelle Geltung hat. Daraus würde sich im Sinne der Membrantheorie der Erregung ergeben, daß Harnstoff bzw. Narkotica durch Änderung

[1] In Höbers Physikal. Chemie d. Zelle u. Gewebe, Leipzig 1926, S. 556ff., 780ff., 783ff. — [2] Ebbecke: Erg. Physiol. usw. **35**, 794ff. (1933). — [3] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 212 (1938).

des Quellungszustandes der am Aufbau der Zellgrenzschicht beteiligten Kolloide einen Grad der Auflockerung bzw. Verdichtung der Zellgrenzfläche hervorrufen können, in dem die Ansprechbarkeit auf einen Reiz so verändert wäre, daß daraus einerseits eine Steigerung, andererseits eine Abnahme der Erregbarkeit folgern würde. Durch Untersuchungen am isolierten Froschherz konnte von uns[4]) gezeigt werden, daß Harnstoff eine Zunahme der Kontraktilität und Arbeitsleistung hervorruft, während Narkotica die Dynamik im umgekehrten Sinne beeinflussen. Es liegt nun nahe, im Anschluß an die obigen Ausführungen über die Möglichkeiten der Änderung der Erregbarkeit durch Harnstoff und Narkotica, anzunehmen, daß die durch Harnstoff hervorgerufene positiv inotrope Wirkung auf das Herz auf einer Steigerung der Erregbarkeit, und die negativ inotrope Wirkung der Narkotica auf einer durch sie hervorgerufenen Abnahme der Erregbarkeit der kontraktilen Elemente des Herzmuskels mit beruht. Nun unterliegen bekanntlich die — nach Engelmann so benannten — bathmo- und inotropen Eigenschaften des Herzens einer weitgehenden Beeinflussung durch die vegetativen Nervenreize des Vagus und Sympathicus. Und zwar beeinflußt der Sympathicus die Eigenschaften in positiver, der Vagus dagegen in negativer Richtung. Die gleiche Wirkung kommt einer Reihe adrenergischer bzw. cholinergischer Stoffe zu. Dabei ist für unsere obige Annahme von Bedeutung, daß die Beeinflussung der oben genannten Engelmannschen Eigenschaften in der einen oder anderen Richtung meist beide Eigenschaften des Herzmuskels gleichzeitig betrifft, so daß ein adrenergischer Reiz Erregbarkeit und Kontraktilität des Herzens in förderndem Sinne, ein cholinergischer Reiz dagegen in hemmendem Sinne beeinflußt. Durch die Untersuchungen von Löwi[5], Dale[6] und Mitarbeitern ist gezeigt worden, daß Adrenalin bzw. Azetylcholin als die humuralen Überträgerstoffe der Herznerven betrachtet werden können, die bereits in sehr kleinen Konzentrationen die gleichen Wirkungen auf das Herz wie eine Vagus- bzw. Acceleransreizung hervorrufen.

In dieser Arbeit wird von uns untersucht, welche Änderungen die Azetylcholinwirkung auf das Herz in Gegenwart von Harnstoff und Narkotica erfährt, und zwar aus folgenden Gründen: Wenn unsere obige Annahme richtig ist, daß Harnstoff die physiologischen Eigenschaften der Erregbarkeit und Kontraktilität im fördernden Sinne beeinflußt, so muß zwischen der Azetylcholinwirkung und Harnstoffwirkung ein Antagonismus bestehen; Harnstoff muß die Wirkung des Azetylcholins auf die eben genannten Eigenschaften abschwächen bzw. aufheben. Zwischen der Azetylcholinwirkung und der Narkoticawirkung dagegen muß ein Synergismus bestehen. Beide Substanzen müssen sich in ihrer Wirkung auf Erregbarkeit und Kontraktilität des Herzens verstärken. Schließlich soll in

[4] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 226 (1938). — [5] Pflügers Arch. **189**, 239 (1921); ebenda **193**, 201 (1922). — [6] Brit. med. J. 1934.

dieser Arbeit noch gezeigt werden, auf welche Weise die Verstärkung der Wirkungsintensität des Azetylcholins durch Narkotica und die Abschwächung der Azetylcholinwirkung durch Harnstoff theoretisch — und zwar an Hand der Membrantheorie der Erregung und der Straubschen Theorie der Potentialwirkung — erklärt werden können.

Methodik.

Die Versuche wurden am isolierten Straubherz und zum Teil auch am Ganztier gemacht. Dabei wurden die zu untersuchenden Substanzen in Ringerlösung gelöst und in die Bauchvene des Frosches injiziert. Die Kammerspitze war mit einem Schreibhebel verbunden, der die Kammerkontraktionen auf einer Trommel aufzeichnete.

Versuche.

Als erstes sollen die Zusammenhänge aufgezeigt werden, die zwischen der Wirkung des Azetylcholins und des Harnstoffs auf die Kontraktilität des nach Straub isolierten Froschherzens bestehen. Aus dem Anfangsteil der Abb. 1 ist die negativ inotrope Wirkung verschieden hoher Konzentrationen von Azetylcholin auf das Herz zu ersehen. 0,01 γ Azetylcholin 1 ccm der in der Straubschen Kanüle enthaltenen Ringerlösung zugesetzt, bewirken einen Herzstillstand, der, nachdem er über 5 Minuten bestanden hat, erst durch Entfernen der azetylcholinhaltigen Ringerlösung wieder aufgehoben werden kann. Die entsprechend geringere Wirkung von 0,005 γ, 0,002 γ und 0,001 γ Azetylcholin geht aus dem weiteren Verlauf des Versuchs hervor. Nachdem das Herz wieder in normaler Ringerlösung schlägt, werden 10 mg Harnstoff zugesetzt. Es kommt in nahezu der gleichen Weise wie bei der Zugabe von 0,01 γ Azetylcholin zu einem momentanen Herzstillstand, aus dem sich das Herz jedoch nach $3^1/_2$ Minuten wieder spontan erholt. Wir können auf Grund früherer Beobachtungen über die Harnstoffwirkung auf das isolierte Froschherz[4] diesen durch Harnstoff hervorgerufenen Herzstillstand folgendermaßen erklären: Im Augenblick der Zugabe des Harnstoffs wird der Kammermuskulatur auf osmotischem Wege so viel Wasser entzogen, daß damit eine hochgradige Entquellung der die Zellgrenzflächen bildenden Kolloide eintritt und die Durchlässigkeit der Zellgrenzschichten vollkommen verlorengeht. Aus den eingangs erwähnten Gründen bedeutet aber eine totale Impermeabilität der Zellgrenzflächen eine Aufhebung der Erregbarkeit und somit auch ein Aufhören jeder Zelltätigkeit. Durch das leichte Eindringungsvermögen des Harnstoffs in das Muskelgewebe, wo er seinen die Quellung steigernden Einfluß auf die Gewebskolloide geltend machen kann, wird der Zustand der Totalimpermeabilität wieder aufgehoben, so daß das Herz nach einer bestimmten Zeit wieder in Tätigkeit übergehen kann. Daß der Harnstoff nach längerer Einwirkungszeit zu einer Erregbarkeitszunahme gegenüber der Norm

führt, beweist die im Anschluß an den Herzstillstand erfolgende Zunahme der Hubhöhen. Doch daß, wenn ein gewisser Grad der Auflockerung in der Zellgrenzschicht erreicht ist, eine Abnahme der Erregbarkeit im Sinne der Membrantheorie der Erregung eintreten muß, geht aus der Abnahme

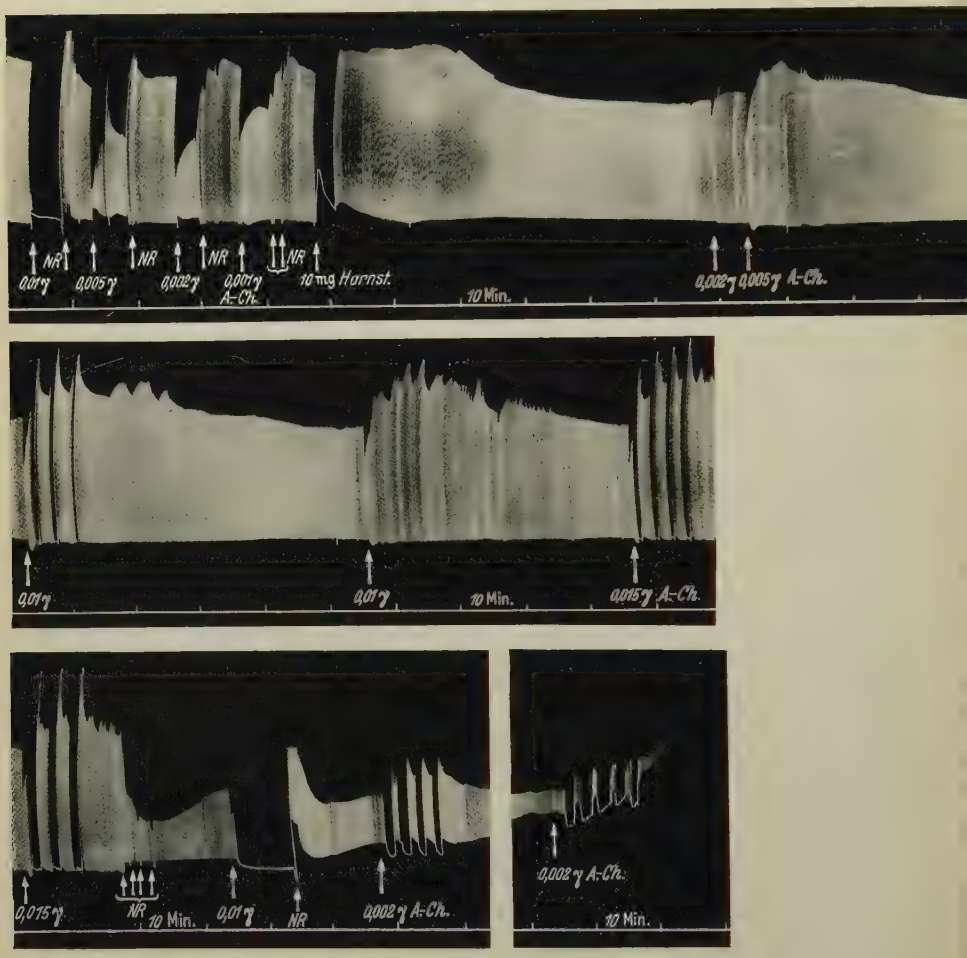


Abb. 1.

der Hubhöhen, von der die Kontraktilitätssteigerung im weiteren Verlauf der Harnstoffeinwirkung gefolgt ist, hervor. Der Grad der Abnahme beträgt nach 1 Stunde 30 %. In diesem Zeitpunkt werden der 10 mg Harnstoff enthaltenden Ringerlösung 0,002 und wenige Minuten später 0,005 γ Azetylcholin zugesetzt. Diese beiden Azetylcholinmengen üben nur mehr eine sehr geringe und sehr flüchtige negativ inotrope Wirkung auf die Kammer des Herzens aus, im Gegensatz zu der starken negativ

inotropen Wirkung der gleichen Azetylcholinmengen vor der Zugabe des Harnstoffs. Wie aus der Abbildung hervorgeht, ist die negativ inotrope Wirkung von 0,005 γ Azetylcholin sogar von einer Erregbarkeits- und Kontraktilitätssteigerung gefolgt. Wie bereits gesagt, ist die Abnahme der Kontraktilität nach längerer Einwirkung des Harnstoffs auf eine durch ihn verursachte hochgradige Permeabilitätssteigerung und Auflockerung der Zellgrenzflächen zu beziehen, die eine weitere für das Zustandekommen einer für den Erregungsvorgang notwendigen Permeabilitätssteigerung nur mehr in beschränkterem Maße zuläßt. Daß in diesem Stadium der „hochgradigen Permeabilitätssteigerung" ein Azetylcholinreiz eine positiv bathmo- und inotrope Wirkung auf das Herz ausübt, ließe sich mit der Annahme erklären, daß Azetylcholin eine physikalisch-chemische Zustandsänderung der Zellgrenzflächen im Sinne einer Permeabilitätsverminderung hervorzurufen imstande ist, durch die die durch Harnstoff erzeugte übermäßige Permeabilitätssteigerung so weit zurückgedrängt wird, daß die Zellgrenzfläche wieder in den Zustand normaler Durchlässigkeit und somit in den Zustand verbesserter Reaktionsbereitschaft gegenüber dem physiologischen Vorhofsreiz versetzt wird. Abermals 1 Stunde später wird Azetylcholin erneut auf seine Wirkung geprüft. Nun zeigt sich, daß erst bei einer Dosis von 0,01 γ Azetylcholin eine stärkere negativ inotrope Wirkung eintritt. Es ist dies die gleiche Menge Azetylcholin, die im Beginn des Versuchs einen langdauernden, nur durch Entfernen des Acetylcholins aufhebbaren Stillstand hervorgerufen hat. Abermals ist die negativ inotrope Wirkung von einer starken Zunahme der Kontraktilität der Kammer gefolgt, ein Befund, dessen Ursache soeben erklärt wurde. Nach abermals 1 Stunde rufen auch 0,01 γ Azetylcholin nur eine geringfügige flüchtige negativ inotrope Wirkung hervor, wobei die folgende positiv inotrope Wirkung um so eindrucksvoller ist. Erst 0,015 γ Azetylcholin haben noch eine stärkere negativ inotrope Wirkung auf die Kammer. Entfernt man 4 Stunden nach Zugabe des Harnstoffs die harnstoffhaltige Ringerlösung aus der Kanüle und ersetzt sie durch normale Ringerlösung, so tritt eine starke Verminderung der Hubhöhen des Herzens auf. Wir haben an anderer Stelle[4] auseinandergesetzt, daß das Auswaschen von Harnstoff aus dem Kammermuskelgewebe eine hochgradige Entquellung, ja selbst eine Auflockerung der Gewebskolloide bewirken kann, die zu einer starken Verdichtung und Permeabilitätsverminderung in den Zellgrenzflächen führt, die wiederum für die Abnahme der Erregbarkeit und Kontraktilität der Kammermuskulatur verantwortlich zu machen ist. Daß mit dem Entfernen des Harnstoffs die durch ihn hervorgerufene Auflockerung und Permeabilitätssteigerung des Gewebes tatsächlich verlorengegangen ist, beweist die Änderung, die die Azetylcholinwirkung nach dem Auswaschen des Harnstoffs erfahren hat. Die Menge von 0,01 γ Azetylcholin, die in Gegenwart von Harnstoff nahezu wirkungslos geworden war, ruft nunmehr ebenso wie zu Beginn des Versuchs einen langdauernden diastolischen

Herzstillstand hervor, der nur durch Auswaschen der azetylcholinhaltigen Ringerlösung wieder aufgehoben werden kann. Daß die Empfindlichkeit des Herzens sogar noch größer ist als zu Beginn des Versuchs, zeigt die Wirkung, die 0,002 γ Azetylcholin haben, die ebenfalls noch einen Kammerstillstand hervorzurufen imstande sind, während auf diese Dosis zu Beginn des Versuchs die Kammer nur mit einer vorübergehenden Kontraktilitätsabnahme antwortete. Aus dem Schlußteil der Abbildung ist schließlich noch zu ersehen, daß die Kammer als Folge der hochgradigen Entquellung und Permeabilitätsverminderung, die das Muskelgewebe erlitten hat, in tonischen Stillstand übergeht. Trotz des tonischen Kammerstillstandes schlug in diesem Versuch der Vorhof noch viele Stunden unverändert

Abb. 2.

gleichmäßig weiter. Es ist dies ein Beweis dafür, daß die im Verlauf dieses Versuchs beobachteten Änderungen der Erregbarkeit und Kontraktilität der Kammermuskulatur vor sich gehen, ohne die Reizbildung im Sinusgebiet des Herzens irgendwie in Mitleidenschaft zu ziehen, daß also als Angriffspunkt der Harnstoffwirkung allein die Bausteine der Herzmuskelzelle, im besonderen die am Aufbau der Zellgrenzflächen beteiligten Muskeleiweißkörper in Frage kommen.

Aus dem in Abb. 2 wiedergegebenen Versuch geht hervor, daß ein bereits über längere Zeit bestehender, durch Acetylcholin hervorgerufener verminderter dynamischer Funktionszustand des Herzens durch Zugabe von Harnstoff vollkommen aufgehoben werden kann. Aus dem Anfangsteil der Abbildung ist die negativ inotrope Wirkung von 0,001 γ Azetylcholin auf die Kammer des Froschherzens zu erkennen. Die Zugabe dieser kleinen Azetylcholinmenge wurde während 3 Stunden noch 14mal wiederholt, bis die Hubhöhe über längere Zeit hin einen konstant niedrigen Wert erreicht hatte und beibehielt. Es wurden nun dem Kanüleninhalt 2,5 mg Harnstoff zugesetzt. Im Augenblick der Zugabe des Harnstoffs erfolgte

eine weitere Abnahme der Kontraktilität, die jedoch schon nach wenigen Minuten von einer raschen Zunahme der Hubhöhen gefolgt ist. Bereits 26 Minuten nach Zugabe des Harnstoffs ist die Hubhöhe um 20 % über den zu Beginn des Versuchs gemessenen Wert hinaus angestiegen. Dieser Befund spricht für die Annahme, daß die durch die Harnstoffzugabe hervorgerufene Auflockerung und Permeabilitätssteigerung nicht allein die normale Erregbarkeit der Kammermuskelzelle wieder herstellt, sondern darüber hinaus sie in den Zustand gesteigerter Ansprechbarkeit auf den physiologischen Sinusreiz versetzt.

Es wurde bereits darauf hingewiesen, daß Harnstoff vor seinem Eindringen in das Muskelgewebe vom Kammercavum aus eine rein osmotische Wirkung auf das Gewebe entfalten kann, die zu einer Entquellung und Permeabilitätsverminderung vorübergehend führt und sich dynamisch in einer Abnahme der Kammerkontraktionen bzw. in einem vorübergehenden Herzstillstand äußert. Die gleichen physikalisch-chemischen und dynamischen Veränderungen erfährt das Froschherz beim Auswaschen des Harnstoffs aus dem Muskelgewebe. Wenn man einem Straubherzen Harnstoff zusetzt, ihn nach einer

Abb. 3.

bestimmten Zeit wieder aus dem Kanüleninhalt entfernt, und die Kanüle mit Normalringerlösung beschickt, der man abermals Harnstoff zusetzt, so wird die osmotische Wirkung der zweiten Harnstoffzugabe infolge der durch den Auswascheffekt hervorgerufenen Permeabilitätsverminderung, die auch das Eindringen des Harnstoffmoleküls in das Innere des Gewebes erschwert, eine bedeutend stärkere sein. Dieser Versuchsweg wurde bei dem in Abb. 3 wiedergegebenen Versuch beschritten, um zu zeigen, daß nicht die chemischen Eigenschaften des Harnstoffs, sondern einzig die Art der durch ihn bewirkten physikalisch-chemischen Zustandsänderungen in den Zellgrenzflächen des Herzmuskelgewebes ausschlaggebend sind für die Richtung und Stärke der Beeinflussung der Azetylcholinwirkung durch Harnstoff. Im Anfangsteil der Abb. 3 ist die Wirkung von 0,05 γ Azetylcholin auf ein mit Normalringer gespeistes Froschherz geprüft worden. Nach Entfernen der azetylcholinhaltigen Ringerlösung wurde die Kanüle wieder mit Normalringer beschickt, dem einige Minuten später 1 mg Harnstoff zugesetzt wurde, der ohne Wirkung auf die Kontraktilität der Kammer bleibt. Die 5 Minuten später erfolgende Prüfung der Azetylcholinwirkung zeigt, daß die Intensität der negativ inotropen Wirkung von 0,05 γ Azetylcholin durch die Gegenwart von 1 mg Harnstoff eine Abschwächung erfahren hat. Es hat demnach 1 mg Harnstoff, ohne die Kontraktilität der Kammer zu verändern, die Erregbarkeit der Herzmuskelzelle aber in einem Grad verändert, durch den sie der negativ bathmo- und inotropen Einwirkung des Azetylcholinreizes gegenüber weniger empfindlich geworden ist. Es ist daraus zu schließen, daß, wie bereits früher besprochen, die Zellgrenzflächen durch die Gegenwart des Harnstoffs eine Auflockerung erfahren haben. Im weiteren Verlauf des Versuchs wurde die 1 mg Harnstoff enthaltende Ringerlösung entfernt und durch Normalringer ersetzt, dem nunmehr 2 mg Harnstoff zugesetzt wurden. Wie aus der Abbildung hervorgeht, ist die Zugabe von 2 mg Harnstoff von einer, wenn auch geringen, Abnahme der Hubhöhen gefolgt. Dies erklärt sich folgendermaßen: Durch die vorausgehende Auswaschwirkung trat eine Entquellung und Permeabilitätsverminderung der Kammermuskulatur ein, die das Eindringen des Harnstoffmoleküls in das Gewebe erschwert, so daß der Harnstoff in der Nährflüssigkeit zurückgehalten, vom Kammercavum aus eine osmotische Wirkung auf das Gewebe entfaltet, die darin besteht, daß er durch Wasserentzug den Quellungszustand und somit die Permeabilität der Kammermuskulatur vermindert. Die letztgenannten Vorgänge verursachen nun die Abnahme der Kontraktilität und, wie wir gleich sehen werden, auch der Erregbarkeit der Kammermuskulatur. Denn nun zeigen 0,05 γ Azetylcholin eine gegenüber der Norm verstärkte Wirkung. Im Augenblick der Zugabe des Azetylcholins kommt es zu einem hochgradigen Abfall der Hubhöhe und $1^1/_2$ Minuten später zum Kammerstillstand. Der Azetylcholinreiz traf demnach eine in ihrer physiologischen Erregbarkeit bereits herab-

geminderte Zellgrenzfläche an, so daß er in seiner negativ bathmo- und inotropen Wirkung auf die Kammermuskulatur verstärkt wurde. Nach Auswaschen der harnstoffhaltigen Ringerlösung und Ersatz des Kanüleninhalts durch Normalringer ist die Hubhöhe bereits deutlich gegenüber der Norm herabgesetzt, trotzdem die Kanüle normale Ringerlösung enthält. Die Auswaschwirkung äußert sich also bereits deutlich in einer Abnahme der Kontraktilität der Kammer. Sie wird durch Zugabe von 3 mg Harnstoff weiterhin in hohem Maße herabgesetzt. Zur Erklärung der Erscheinung können wir auf das oben Gesagte verweisen. Daß mit der Abnahme der Permeabilität die Empfindlichkeit der Kammermuskulatur für den negativ bathmo- und inotropen Azetylcholinreiz fortschreitet, beweist die erneute Zugabe von 0,05 γ Azetylcholin, die abermals zu einem Herzstillstand führt, der gegenüber dem vorigen deutlich verlängert ist. Und weiterhin ist zu ersehen, daß die entsprechend stärkere osmotische und damit abdichtende Wirkung von 4 mg Harnstoff auch eine entsprechende Verstärkung der Wirkungsintensität des Azetylcholinreizes verursacht. Aus dem weiteren Verlauf des Versuchs ist zu ersehen, daß trotz steigender Harnstoffkonzentrationen die osmotische Wirkung des Harnstoffs, die sich ja in der durch die Permeabilitätsverminderung bewirkten Kontraktilitätsabnahme äußert, nicht mehr weiter zunimmt. Es ist dieser Befund wohl darauf zurück-

Abb. 4.

zuführen, daß nun neben der osmotischen Wirkung der das Quellungsvermögen und die Permeabilität steigernde Einfluß des Harnstoffs zur Geltung kommt. Es scheint die Konzentration von 0,5 % Harnstoff in der Nährflüssigkeit zu genügen, um trotz verminderter Durchlässigkeit infolge des bestehenden hohen Diffusionsgefälles dem Harnstoff den Eintritt in das Gewebe zu erzwingen.

Der in Abb. 4 wiedergegebene Versuch soll zeigen, daß die am isolierten Organ erhobenen Befunde in gleicher Weise am Froschherz in situ zu beobachten sind. Zu dem Versuch, dessen Methodik bereits mitgeteilt ist, wurde ein 70 g schwerer Wasserfrosch benutzt. Zu Beginn des Versuchs wurde in der gleichen Weise wie am isolierten Herzen die negativ inotrope Wirkung verschieden hoher Azetylcholinkonzentrationen auf das im Gesamtorganismus belassene Herz geprüft. 65 Minuten nach Injektion von 20 mg Harnstoff in die Bauchvene wurde die Wirkungsintensität von Azetylcholinreizen erneut geprüft. Dabei entspricht die Wirkungsintensität von 1,0 γ Azetylcholin etwa der von 0,4 γ vor der Harnstoffzugabe. Nun wurden in die Bauchvene des Frosches 12 mg Chloralhydrat injiziert, und 15 Minuten später die Ansprechbarkeit des Herzens auf Azetylcholinreize geprüft. Wie aus der Abbildung hervorgeht, bewirken Azetylcholinmengen von 0,5 γ bis herunter zu 0,05 γ einen Kammerstillstand. Dabei entspricht die Wirkung von 0,05 γ Azetylcholin unter dem Einfluß des Narkoticums in ihrer Intensität etwa der von 1,0 γ Azetylcholin vor Zusatz des Chloralhydrats. Durch die Injektion des Narkoticums wurde also die Empfindlichkeit des in situ belassenen Froschherzens gegenüber der Wirkung des Azetylcholins um das 20fache erhöht. Daß diese durch Chloralhydrat hervorgerufene Empfindlichkeitssteigerung des Herzens für Azetylcholin durch Zugabe von Harnstoff wieder weitgehend rückgängig gemacht werden kann, geht daraus hervor, daß nach erfolgter Injektion von 10 mg Harnstoff 0,05 γ bzw. 0,1 γ Azetylcholin nur noch eine vorübergehende Bradycardie und erst 0,5 γ Azetylcholin einen Herzstillstand verursachen. Der Zusammenhang zwischen Azetylcholin- und Harnstoffwirkung auf das in situ belassene Froschherz bedarf keiner weiteren Besprechung, denn er ist in seinen Ursachen bereits an Hand der früheren Versuchsbeispiele eingehend erläutert worden. Es hat sich auch in diesem Versuch gezeigt, daß Harnstoff die Azetylcholinwirkung abschwächt, und zwar genügten in diesem Falle 20 mg Harnstoff, um die Wirkungsintensität von Azetylcholin um rund 150 % herabzusetzen. Doch auch hinsichtlich der Wirkungsverstärkung des Azetylcholins durch Narkotica, in diesem Falle durch Chloralhydrat, können wir teils auf das in der Einleitung Gesagte verweisen. Daß Narkotica auf Muskelgewebe sowohl entquellend als auch permeabilitätsvermindernd wirken, haben die Untersuchungen von Knaffl-Lenz[7], Kochmann[8], Dette[9], Winterstein[10] und eigene Unter-

[7] Pflügers Arch. **171**, 51 (1918). — [8] Biochem. Z. **136**, 49 (1923). — [9] Ebenda **149**, 136 (1924). — [10] Ebenda **75**, 71 (1916).

suchungen[3] eingehend bewiesen. Hinsichtlich des Zusammenhangs zwischen Narkoticum, Erregbarkeit und Funktionszustand können wir die Auffassung Wintersteins[11] heranziehen, der die Wirkung der Narkotica darin sieht, daß sie durch Verminderung der Permeabilität zu einer Verhinderung der mit der Erregung verbundenen Permeabilitätssteigerung und somit zu einer Herabsetzung, ja Aufhebung der Erregbarkeit führen. Die Tatsache, daß Narkotica die Wirkungsintensität des Azetylcholins in so hohem Maße verstärken, und wie aus dem Versuch eindeutig hervorgeht, Harnstoff die Wirkungsverstärkung durch Narkotica wieder aufzuheben vermag, andererseits am unbeeinflußten Organ die Azetylcholinwirkung abzuschwächen bzw. aufzuheben vermag, zwingt zu dem Schluß, daß den

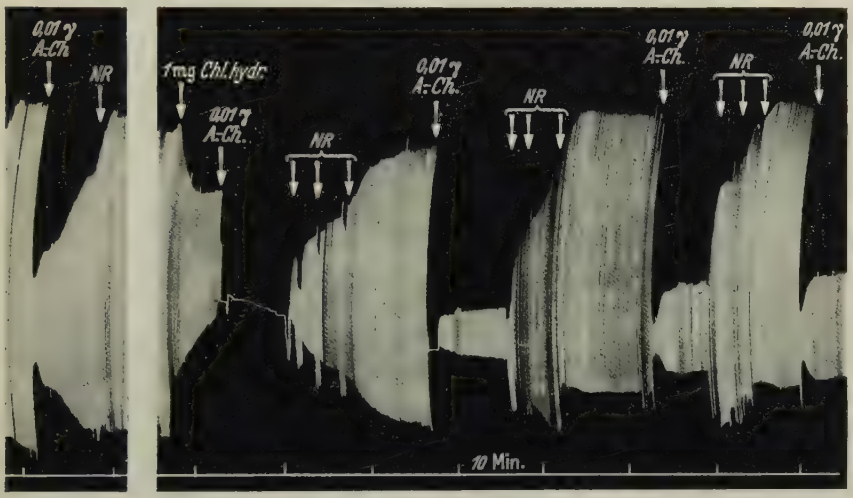


Abb. 5.

Änderungen der bekannten bathmo- und inotropen Wirkung des Azetylcholins als Ursache die gleichen physikalisch-chemischen Veränderungen an den Zellgrenzflächen der Muskelzelle zugrunde liegen müssen, die das Narkoticum dort hervorruft, daß sie andererseits den durch Harnstoff hervorgerufenen kolloidalen Zustandsänderungen der Zellgrenzschicht entgegengesetzt sein müssen.

Daß der am Ganztier erhobene Befund über die Verstärkung der Azetylcholinwirkung durch Narkotica auch am isolierten Herzen Gültigkeit hat, möge der in Abb. 5 wiedergegebene Versuch beweisen. Die Abbildung zeigt, daß durch Zusatz von 1 mg Chloralhydrat zur Ringerlösung die Wirkungsintensität von 0,01 γ Azetylcholin enorm gesteigert wird. Der in Gegenwart des Narkoticums durch 0,01 γ Azetylcholin hervorgerufene

[11] Die Narkose, Berlin 1926, S. 401.

Kammerstillstand konnte nach einem Bestehen von 8 Minuten nur durch Entfernen der azetylcholinhaltigen Ringerlösung aufgehoben werden. Nachdem durch mehrmalige Erneuerung der Normalringerlösung das Narkoticum weitgehend aus der Kammermuskulatur ausgewaschen worden war, was sich an dem Wiederanstieg der Hubhöhen zu erkennen gibt, wurde die Azetylcholinwirkung erneut auf ihre Intensität geprüft. Es zeigte sich, daß erst nach zwölfmaliger Erneuerung des Kanüleninhalts mit Normalringerlösung das Narkoticum praktisch aus dem Gewebe ausgewaschen war, und die Ansprechbarkeit der Kammer gegenüber Azetylcholin der

Abb. 6.

vor Zugabe des Narkoticums wieder entsprach. Der Versuch beweist, daß hinsichtlich der Auswaschwirkung sich Chloralhydrat ebenso verhält wie Harnstoff, selbstverständlich in entgegengesetzter Richtung. Während durch Entfernen des Harnstoffs eine Entquellung, Permeabilitätsverminderung, Abnahme der Kontraktilität und Empfindlichkeitssteigerung gegenüber Azetylcholin eintritt, nimmt mit dem Auswaschen des Narkoticums die Kontraktilität der Kammer wieder zu und die Ansprechbarkeit auf Azetylcholin nimmt wieder ab.

Daß sich andere Narkotica, außer in quantitativer Hinsicht, in ihrer Wirkung von der des Chloralhydrats nicht unterscheiden, möge ein Versuch mit Urethan beweisen, der in Abb. 6 wiedergegeben ist. Eine gewisse Abweichung von der typischen Narkoticawirkung, wie sie Chloralhydrat und

Urethan zeigen, war bei den Versuchen mit Chloroform zu beobachten. Chloroform selbst übt auf das isolierte Froschherz bereits in sehr kleinen Konzentrationen eine stark negative bathmo- und inotrope Wirkung aus. Wie aus Abb. 7 hervorgeht, genügt schon die Zugabe von 0,1 mg Chloroform zu 1 ccm Ringerlösung, um einen, allerdings rasch vorübergehenden, Herzstillstand hervorzurufen. Doch scheinen infolge der flüchtigen Wirkung des Chloroforms die physikalisch-chemischen Zustandsänderungen, die durch Zugabe von Chloroform an den Zellgrenzflächen des Muskelgewebes hervorgerufen werden, geringgradig und nur von kurzer Dauer zu sein, so daß der Grad der Wirkungsverstärkung des Azetylcholins verhältnismäßig gering ist. Für diese Annahme sprechen auch die Angaben von Kochmann[8], daß

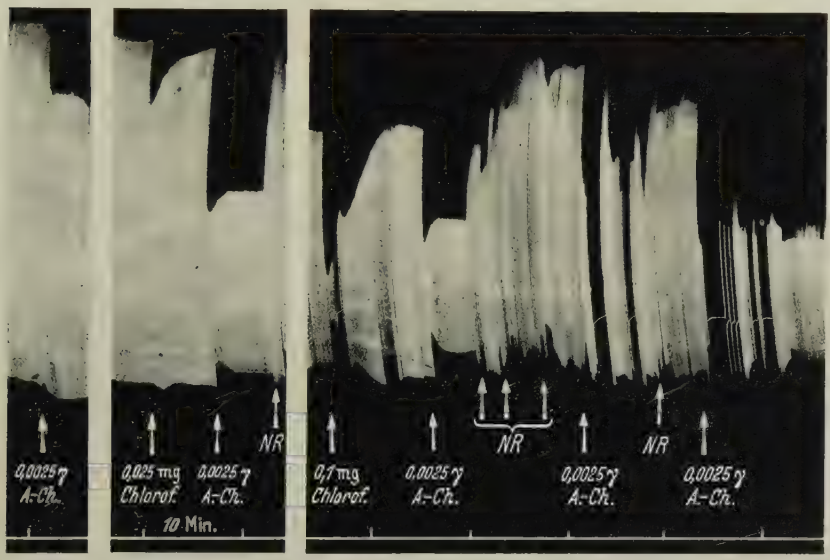


Abb. 7.

unter neun von ihm auf ihre entquellende Wirkung am Froschgastrocnemius untersuchten Narkotica Chloroform den geringsten dehydratisierenden Einfluß auf den Muskel ausübte. Auch die Angabe Wintersteins[12], daß Chloroform im Gegensatz zu anderen Narkotica in narkotisch wirksamen Konzentrationen eine Permeabilitätsverminderung der Froschmuskulatur für Wasser und Salze nicht mehr hervorruft, sondern eher die Permeabilität des Muskelgewebes steigert, kann ebenfalls zur Erklärung für die geringe Wirkungssteigerung des Azetylcholins durch Chloroform herangezogen werden. Hinsichtlich seiner Auswaschwirkung steht es sogar dem Harnstoff näher als den übrigen Narkotica. Denn wie aus Abb. 7 hervorgeht, ist die Wirkungsintensität des Azetylcholins nach Auswaschen des Chloro-

[12] Die Narkose, Berlin 1926, S. 385.

forms stärker als in Gegenwart dieses Narkoticums. Daß die Auswaschwirkung des Chloroforms dem Wesen nach einem Entquellungsvorgang entspricht und somit zu einer Permeabilitätsverminderung zu führen scheint, ist deshalb sehr wahrscheinlich, weil die Kammer nach Auswaschen des Chloroforms stets in tonische Kontraktur übergeht. Auf den Zusammenhang zwischen Permeabilitätsverminderung und Kontrakturbereitschaft sind wir bereits in einer anderen Arbeit[4] näher eingegangen.

Besprechung.

Die obigen Versuche haben also bewiesen, daß Harnstoff durch seinen das Quellungsvermögen von Kolloiden steigernden Einfluß eine Auflockerung und Permeabilitätssteigerung hervorruft, die die Ansprechbarkeit der Kammer für den physiologischen Vorhofreiz erhöhen. Die Erregbarkeitssteigerung versetzt die Kammermuskulatur in den Zustand gesteigerter Tätigkeit, die sich in einer Zunahme der Kontraktilität in Gegenwart von Harnstoff äußert. Die negativ bathmo- und inotrope Wirkung des Azetylcholins als des humuralen Vagusüberträgerstoffs wird durch Harnstoff abgeschwächt bzw. aufgehoben. Sie wird dann ins Gegenteil gekehrt, wenn die durch Harnstoff hervorgerufene Auflockerung und Permeabilitätssteigerung der Zellgrenzflächen einen Grad erreicht hat, durch den die Ansprechbarkeit auf den physiologischen Vorhofreiz deshalb herabgemindert ist, weil eine mit dem Erregungsvorgang einhergehende Permeabilitätssteigerung der Zellgrenzflächen nurmehr in beschränkterem Maße möglich ist. In diesem Stadium der hochgradigen Permeabilitätssteigerung und Auflockerung nimmt als Folge der herabgesetzten Erregbarkeit die Kontraktilität der Kammer regelmäßig ab, was sich in einer Verminderung der Hubhöhe kundtut. Die Versuche haben weiter gelehrt, daß sich die eben beschriebene Harnstoffwirkung ins gerade Gegenteil umkehrt dann, wenn der Harnstoff am Eindringen ins Muskelgewebe gehindert wird, und in der Nährflüssigkeit zurückgehalten vom Kammercavum aus auf osmotischem Wege dem Muskelgewebe Wasser entzieht, wodurch es zu einer Entquellung und Permeabilitätsverminderung kommt. Zur gleichen Wirkung führt das Entfernen des Harnstoffs aus dem Gewebe, der sogenannte „Auswascheffekt". Die Versuche, in denen Narkotica zur Anwendung kamen, haben gezeigt, daß sie durch Entquellung und Permeabilitätsverminderung die Ansprechbarkeit der Kammermuskulatur auf den physiologischen Vorhofreiz herabsetzen, und damit den Funktionszustand der Kammer verschlechtern. Sie verstärken die Azetylcholinwirkung auf das Froschherz in hohem Maße. Die Tatsache, daß die durch Harnstoff bzw. Narkotica verursachten Änderungen der normalen Erregbarkeit und Kontraktilität der Kammer auf entsprechenden Änderungen im Kolloidzustand der Zellgrenzflächen des Muskelgewebes beruhen und daß weiterhin gezeigt werden konnte, daß der negativ bathmo- und inotrope Einfluß des Azetylcholins auf das Herz in Gegenwart von Harnstoff abgeschwächt bzw. aufgehoben werden kann, durch Narkotica aber verstärkt wird,

spricht dafür, daß die Wirkungsänderung des Azetylcholins über eine Änderung im physikalisch-chemischen Zustand der Zellgrenzflächenkolloide zustande kommen könnte im Sinne einer Entquellung und Permeabilitätsverminderung.

Wir sind bei der bisherigen Erklärung unserer Ergebnisse von der Voraussetzung ausgegangen, daß einer gleichen einem Herzen von außen zugeführten Azetylcholinmenge stets eine gleichstarke bathmo- und inotrope Wirkung entsprechen würde, und daß nicht deshalb durch Auflockerung und Permeabilitätssteigerung der Zellgrenzflächen eine Abnahme der Azetylcholinwirkung zustande käme, weil der Wirkungsgrad der Azetylcholinmenge als solcher herabgesetzt wäre, sondern weil durch Auflockerung der Zellgrenzflächen deren Ansprechbarkeit auf den physiologischen Sinusreiz erhöht wird, und die Zelle im Zustand gesteigerter Erregbarkeit auf negativ bathmotrope Azetylcholinreize weniger stark anspricht. Umgekehrt ist bei verminderter Permeabilität der Zellgrenzflächen nach unserer bisherigen Annahme die Azetylcholinwirkung deshalb nur verstärkt, weil die Zelle im Zustand verminderter Erregbarkeit auf einen Hemmungsreiz leichter anspricht.

Nachdem aber von Kahlson[13], Haag und Kahlson[14], Gremels[15] und Gremels und Zinnitz[16] nachgewiesen wurde, daß der Wirkungscharakter des Azetylcholins dem eines Potentialstoffes im Sinne der Straubschen Theorie der Potentialwirkungen (Straub[17]) entspricht, erhebt sich die Frage, ob nicht durch Änderungen der Zellgrenzflächendurchlässigkeit die Wirkungsintensität und Wirkungsdauer von Azetylcholin unmittelbar beeinflußt wird. Denn im Straubschen Sinne kommt die Wirkung eines Potentialstoffes „durch den Ausgleich eines bestimmtwertigen Konzentrationspotentials in der Richtung zum Zellinnern" zustande. Durch Abdichtung bzw. Permeabilitätsverminderung der Zellgrenzflächen würde aber der „Ausgleich eines bestimmtwertigen Konzentrationspotentials in der Richtung zum Zellinnern" bei Zufuhr gleichgroßer Azetylcholinmengen von außen her nicht nur zeitlich verzögert, sondern es würde das Konzentrationspotential durch die an in ihrer Durchlässigkeit veränderten Grenzflächen hervorgerufene Gefällestauung auch gleichzeitig erhöht werden, und da die Höhe des Konzentrationspotentials die Wirkungsstärke eines Potentialstoffes bestimmt, kommt es bei einer durch äußere Einflüsse hervorgerufenen Abdichtung und Permeabilitätsverminderung der Zellgrenzflächen infolge des dadurch erhöhten Azetylcholinkonzentrationspotentials zu einer verstärkten Azetylcholinwirkung, die sich in einer verstärkten negativ bathmo- und inotropen Wirkung auf das Herz äußert. Eine Auflockerung und Permeabilitätssteigerung der Grenzflächen dagegen, wie sie durch Harnstoff zu erreichen ist, wird zu einer Abschwächung bzw. sogar Aufhebung der Azetylcholinwirkung

[13] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **169**, 44 (1932). — [14] Ebenda **169**, 56 (1932). — [15] Ebenda **179**, 360 (1935). — [16] Ebenda **179**, 229 (1935). — [17] Ebenda **57**, 423 (1907).

führen müssen; denn sind im extremen Fall die Zellgrenzflächen so durchlässig geworden, daß sich bei Zufuhr von Azetylcholin von außen an den Zellgrenzflächen ein wirksames, d. h. ein das bestehende Azetylcholinkonzentrationspotential übersteigendes Konzentrationsgefälle überhaupt nicht mehr aufbauen kann, so daß in kürzester Zeit zwischen der Zelle und ihrer Umgebung ein Konzentrationsausgleich zustande kommen kann, so bleibt die Azetylcholinzufuhr ohne Wirkung.

Doch die Straubsche Theorie der Potentialwirkungen vermag auch die unter der Einwirkung von Narkotica bzw. im Augenblick der Harnstoffzugabe auftretende Abnahme der Erregbarkeit und Kontraktilität einerseits und die unter der Einwirkung von Harnstoff beobachtete Zunahme der Kontraktilität und Erregbarkeit andererseits zu erklären. Es ist anzunehmen, daß auch die Tätigkeit des isolierten Kaltblüterherzens noch einer dauernden Beeinflussung durch parasympathische Nervenreize unterliegt, indem durch dauernde Bildung und Verseifung von Azetylcholin ein bestimmtwertiges Konzentrationspotential geschaffen wird, durch das die nervösen und dynamischen Vorgänge am isolierten Organ noch ebenfalls gesteuert werden. Die Höhe dieses durch Azetylcholindauerbildung und -verseifung vom Organ selbst geschaffenen Konzentrationspotentials muß selbstverständlich ebenfalls von dem jeweiligen Permeabilitätsgrad der Zellgrenzflächen abhängig sein. Verändert man z. B. durch Zugabe von Narkotica oder durch auf osmotischem Wege hervorgerufene Entquellung die Zellgrenzflächendurchlässigkeit des Organs, so muß es bei gleichbleibender Neubildung und Verseifung an den abgedichteten Zellgrenzflächen zu einer Erhöhung des Konzentrationspotentials und somit zu einer verstärkten Azetylcholinwirkung kommen. Andererseits kommt es bei einer durch äußere Einflüsse hervorgerufenen Durchlässigkeitssteigerung der Zellgrenzflächen bei gleichbleibender Neubildung von Azetylcholin in kürzester Zeit zu einem Konzentrationsausgleich zwischen dem Zellinnern und dem Bildungsort des Azetylcholins und somit zu einer Herabsetzung der Azetylcholinwirkung. Wird dadurch der Einfluß des Hemmungsreizes auf den normalen Erregungsvorgang abgeschwächt bzw. aufgehoben, so würde das eine Zunahme der Erregbarkeit und Kontraktilität des Organs bedeuten.

Versuchen wir eine Synthese der Erklärungsmöglichkeiten, die uns die Membrantheorie der Erregung und die Straubsche Theorie der Potentialwirkungen an die Hand geben, so würde sich folgendes ergeben: Die Stärke der normalen Erregbarkeit und somit Kontraktilität der Kammermuskelzelle ist in hohem Maße abhängig von dem jeweiligen Quellungszustand der die Zellgrenzflächen aufbauenden Kolloide und dem jeweiligen Permeabilitätsgrad dieser Zellgrenzflächen. Eine durch äußere Einflüsse hervorgerufene Entquellung der Grenzflächenkolloide und somit Abdichtung und Permeabilitätsverminderung erschwert nicht allein das Zustandekommen der den Erregungsvorgang begleitenden Auflockerung und Permeabilitätssteigerung, sondern erhöht gleichzeitig das bestehende

Azetylcholinkonzentrationspotential. Es erfährt also der normal starke Vorhofreiz durch Abdichtung und Permeabilitätsverminderung der Zellgrenzflächen eine doppelte Abschwächung. Er findet die Zellgrenzflächen im Zustand verminderter Ansprechbarkeit und unterliegt außerdem der verstärkten hemmenden Einwirkung des Vagus bzw. seines Überträgerstoffes Azetylcholin. Auf der anderen Seite befindet sich die aufgelockerte und in ihrer Durchlässigkeit erhöhte Zellgrenzschicht nicht nur im Zustand gesteigerter Ansprechbarkeit auf den physiologischen Vorhofreiz, sie verhindert auch dadurch, daß sie dem Eindringen des Azetylcholins ins Zellinnere einen geringeren Widerstand entgegensetzt — bei gleichbleibender Neubildung bzw. Zufuhr von außen — das Zustandekommen eines wirksamen Konzentrationspotentials, so daß der negativ bathmo- und inotrope Einfluß des Azetylcholins auf den normalen Erregungs- und Kontraktionsvorgang teilweise bzw. auch ganz in Wegfall kommt.

Man könnte die Vorstellung von den Vorgängen, die bei einer durch äußere Einflüsse hervorgerufenen Permeabilitätsverminderung der Zellgrenzflächen zur Abnahme der Erregbarkeit und Kontraktilität der Kammer des Herzens führen — und selbstverständlich auch umgekehrt — noch dahin vereinfachen, daß man als Ursache der negativ bathmo- und inotropen Wirkung des Azetylcholins eine vom Azetylcholinkonzentrationspotential in ihrer Stärke abhängige Änderung der physikalisch-chemischen Eigenschaften der Zellgrenzflächenkolloide und somit der Permeabilität der Zellgrenzflächen annehmen würde, und zwar würde mit zunehmendem Azetylcholinkonzentrationspotential der abdichtende und permeabilitätsvermindernde Einfluß auf die Zellgrenzflächen zunehmen müssen.

Zusammenfassung.

1. Die negativ bathmo- und inotrope Wirkung des Azetylcholins auf die Kammer des Froschherzens wird durch Harnstoff abgeschwächt bzw. aufgehoben, wenn er auf das Kammermuskelgewebe einen quellungsfördernden und permeabilitätssteigernden Einfluß ausübt.

2. Wenn der Quellungsgrad und die Permeabilitätssteigerung durch Harnstoff ein bestimmtes Maß überschritten haben, kehrt sich die Azetylcholinwirkung um und tritt nun als positiv inotroper Einfluß in Erscheinung.

3. Wirkt Harnstoff auf osmotischem Wege entquellend und permeabilitätsvermindernd, so verstärkt er die Azetylcholinwirkung.

4. Narkotica, die die Quellung und Permeabilität des Muskelgewebes herabsetzen, verstärken in hohem Maße die Azetylcholinwirkung auf die Kammer des Froschherzens.

5. Die ursächlichen Zusammenhänge, die zwischen Quellungszustand, Permeabilitätsgrad, Erregbarkeit und Kontraktilität bestehen, Art und Richtung ihrer Beeinflussung durch Harnstoff, Narkotica und Azetylcholin werden an Hand der Membrantheorie der Erregung und der Straubschen Theorie der Potentialwirkung erklärt.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Bratislava (Preßburg) Č. S. R.
(Vorst.: Prof. Dr. B. Polák.)

Die enterale Resorption von g-Strophanthin und ihre Beeinflußbarkeit durch Digitonin.

I. Mitteilung.

Von

Franz Švec.

(Eingegangen am 16. Dezember 1938.)

Die Resorption von Digitalissubstanzen im Magendarmkanal bzw. ihre Zerstörung durch die Verdauungssäfte bildet ein praktisch wichtiges Problem der Digitaliswissenschaft, weil die Behandlung mit diesen Stoffen zur Zeit vorwiegend per os gehandhabt wird. Zum gleichen therapeutischen Effekt wird per os eine wesentlich größere Menge Digitalissubstanz als intravenös benötigt. Die Verluste sind verschieden nach dem chemischen Aufbau des betreffenden Digitalisstoffes, aber auch von der Sekretionsintensität des Verdauungstraktes abhängig. Aus der Literatur ist bekannt, daß schon im Magen ein Teil des Digitalisstoffes zerstört wird. Wir haben bereits in früheren Mitteilungen[1, 2] festgestellt, daß diese Zersetzung sowohl von der chemischen Beschaffenheit des Magensaftes als auch von der Sekretionsbereitschaft des betreffenden Magens abhängig ist. Digitalissubstanzen reizen den Magen zur Sekretion, von der sie dann teilweise abgebaut werden. Aber nicht nur im Magen, sondern auch im Darmtrakt, im alkalischen Milieu werden diese Substanzen zerstört, worauf bereits v. Brücke[3] hingewiesen hat. Einer besonders starken Zerstörung unterliegen die Strophanthine, weshalb von ihnen zur gleichen therapeutischen Wirkung per os eine auffallend größere Menge als intravenös gebraucht wird. Aufgabe dieser Mitteilung ist es, die Toxizität und enterale Resorption des g-Strophanthins zu studieren.

Methodik.

Unsere Versuche wurden an Katzen beiderlei Geschlechts im Gewicht von 1,8—3,5 kg, die wir vorher 24 Stunden hungern ließen, ausgeführt. Versuche, bei denen sich an den Tieren nachträglich irgendwelche pathologische Veränderungen oder Gravidität fanden, wurden ausgeschieden. Zuerst bestimmten wir die kleinste tödliche Menge (Dlm) des g-Strophanthins (Ouabain) Merck nach der Titrationsmethode von Magnus-Hatcher, indem wir dasselbe in der Verdünnung 1 : 150000 mit konstanter Einlaufgeschwindigkeit in die vena femoralis infundierten (0,1 mg/kg/45. Min.).

[1] Švec: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **185**, 57 (1937). — [2] Švec: Ebenda **189**, 600 (1938). — [3] v. Brücke: Ebenda **182**, 444 (1936).

Tabelle 1. Dos. let. g-Strophanthin nach Magnus-Hatcher. Inf. 0,1 mg/kg/45 Min.

Versuch Nr.	Katze Gewicht in g	Infusionsdauer	Verbrauch in mg	Dosis in mg/kg
1	2530	38	0,2500	0,0980
2	2215	37	0,2486	0,1122
3	2300	46	0,2460	0,1083
4	2485	35	0,2400	0,0965
5	2925	36	0,2880	0,0980
	Mittel:	38	Mittel:	0,1026

In Tabelle 1 sind die Titrationswerte des g-Strophanthins angegeben. Aus fünf übereinstimmenden Versuchen ergibt sich als Mittelwert 0,1026 mg/kg. Die gleiche Dos. let. min. geben auch andere Autoren an. Rothlin[4] fand als kleinste tödliche Menge 0,102 mg/kg, Weese[5] gibt 0,100 mg/kg an, Bauer und Fromherz[6] 0,114 mg/kg usw.

Zur Erforschung der Resorptionsverhältnisse des g-Strophanthins ist es wichtig, seine Toxizität auch in zeitlich nichtbeschränkter Wirkungsdauer zu kennen. Fromherz und Welsch[7], später Bauer[8] und Rothlin[9] stimmen dabei überein, daß auch kleinere Mengen nach Ablauf einer längeren Zeitdauer tödlich wirken. Bei intravenöser Injektion werden nach Rothlin zur Tötung des Tieres 90 % der Magnus-Hatcher-Menge des g-Strophanthins, also fast die ganze Infusionsdosis gebraucht. Diese Tatsache wird auch durch unsere Versuche, siehe Tabelle 2, bewiesen. Sie beruht, wie auch Bauer und Fromherz[10], Heubner und v. Nyáry[11] angeben, auf einer geringeren Kumulationsfähigkeit des g-Strophanthins gegenüber den Digitalissubstanzen I. Ordnung.

Tabelle 2. Intravenös Dos. let. g-Strophanthin bei zeitlich nichtbegrenzter Wirkungsdauer.

Versuch Nr.	Katze Gewicht in g	Dosis in mg/kg	% der Magnus-Hatcher-Dosis	Tot bzw. lebend nach
1	2935	0,2710	90	† 4 Tagen
2	1940	0,1791	90	† 6 „
3	2550	0,2354	90	* 7 „
4	2910	0,2537	85	† 8 „
5	1850	0,1518	80	* 7 „
6	3142	0,2578	80	* 5 „

[4] Rothlin: Helvetica Med. Acta **1**, 460 (1934). — [5] Weese: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **135**, 128 (1928). — [6] Bauer u. Fromherz: Ebenda **172**, 693 (1933). — [7] Fromherz u. Welsch: Ebenda **161**, 266 (1931). — [8] Bauer: Ebenda **176**, 65 (1934). — [9] Rothlin: Helvetica. Med. Acta. **1**, 460 (1934). — [10] Bauer u. Fromherz: Klin. Wschr. **1933**, S. 973. — [11] Heubner u. v. Nyáry: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **177**, 60 (1935).

Resorption.

Über die Resorption des g-Strophanthins liegen einige Arbeiten in der Literatur vor. Lendle[12] fand bei Versuchen mit g-Strophanthin an kurarisierten Fröschen den Wirkungskoeffizienten per os/subcutan 40. Lewisson[13] verglich die tödlichen Mengen von Digitalissubstanzen, die er in den Magen injizierte, mit solchen, die in den Lymphsack injiziert wurden. Er fand ein Verhältnis für g-Strophanthin von 27,5. Auffallend große Verluste an Strophanthin sind nach Hatcher[14] bei Nagetieren zu verzeichnen. Haupstein[15] verweist auch auf die geringere Wirkung von g-Strophanthin per os. Bei Kaninchen stellte er das Verhältnis intravenös per os 1 : 100 fest. Kaninchen werden nach Johannesson[16] per os durch die 100fache intravenöse Menge von k-Strophanthin und durch die 50fache intravenöse Menge von g-Strophanthin getötet. Hatcher behauptet, daß bei Katzen auch die 10fache intravenöse Menge vom Dünndarm aus nicht tödlich wirkt. Er schließt daraus auf eine intensive Zerstörung im alkalischen Darmsaft.

Die Resorption der Digitalissubstanzen vom Dünndarm aus haben Issekutz[17] und später v. Nyáry[18] verfolgt. Letzterer injizierte in das am Pylorus unterbundene Duodenum der Katzen nach Hatcher tödliche Mengen von verschiedenen Digitalissubstanzen und stellte mittels Titration nach 3 und 6 Stunden die tödliche Zusatzdosis fest. Die resorbierte Digitalismenge ergab sich aus der Differenz der Duodenal- und Zusatzdosis. Mit Hilfe dieser Methode stellte v. Nyáry fest, daß von der Magnus-Hatcher-Dosis des g-Strophanthins vom Dünndarm aus in 3 Stunden 30%, in 6 Stunden 45% resorbiert werden.

In der ersten Versuchsserie hofften wir die enterale Toxizität des g-Strophanthins durch duodenale Titration feststellen zu können.

Da sich eine mehrstündige Dauer der Versuche voraussehen ließ, verwendeten wir zur Narkose nicht Äther, sondern Urethan (1 g/kg) und ergänzten die Schmerzstillung durch Lokalanästhesie mittels Percain. Nach Öffnung der Bauchhöhle (2 cm) trennten wir das Duodenum vom Pylorus mittels einer Ligatur, führten in dasselbe eine Darmkanüle ein und infundierten die konstant warm gehaltene g-Strophanthinlösung mit gleichbleibender Geschwindigkeit. Während der ganzen Versuchszeit wurde das Tier warmgehalten, und die Wunde ständig mit Percain angefeuchtet. Unsere zuerst gewählte Verdünnung zusammen mit der Einlaufgeschwindigkeit (1 : 150000, 1 ccm/1 Min.) erwies sich als nicht zweckmäßig. Nach 3—4 Stunden sammelte sich im Dünndarm eine größere Menge der Strophanthinlösung an, die nicht resorbiert wurde und wahrscheinlich den Tod des Versuchstieres beschleunigte. Erst die Verlangsamung der Infusion auf 1 ccm/5 Min. führte zur Resorption, wobei wir die Konzentration auf 1 : 15000 erhöhten, um die Versuche

[12] Lendle: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **109**, 35 (1925). — [13] Lewisson: Z. exper. Path. u. Ther. **20**, 375 (1919). Zitiert nach Lendle: Handb. d. exper. Pharm. Ergänzungswerk S. 82. — [14] Hatcher: Amer. J. Physiol. **23**, 303 (1908). Zitiert nach Weese: Digitalis S. 119. — [15] Haupstein: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **126**, 121 (1927). — [16] Johannesson: Ebenda **78**, 92 (1915). — [17] Issekutz: Biochem. Zentralh. **20**, 316 (1918). — [18] v. Nyáry: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **165**, 432 (1932).

nicht über 8 Stunden auszudehnen. Verglichen mit der intravenösen Titration erhielt das Tier etwa die doppelte Strophanthinzufuhr. Die Tiere blieben bei den Versuchen ruhig, höchstens in der zweiten Hälfte der Versuche kam es gelegentlich zum Erbrechen.

Tabelle 3. Dos. let. min. g-Strophanthin bei duodenaler Titration (inf. 1 ccm/5 Min. Verdünnung 1 : 15000).

Versuch Nr.	Katze Gewicht in g	Infusionsdauer	Verbrauch in mg	Dosis in mg/kg	Hatcher-Magnus-Dosen
1	2150	6h	4,8000	2,2325	21,7
2	2315	6h 13′	5,0133	2,1655	21,1
3	3500	7h 45′	6,2000	1,7717	17,2
4	2000	4h 10′	3,3000	1,6500	16,0
5	3325	6h 45′	5,4000	1,6240	15,8
6	2130	5h 18′	4,2333	1,9874	19,3
7	2915	5h	4,0000	1,3722	13,3
8	2750	5h 25′	4,3333	1,5757	15,3
9	3010	5h 23′	4,3000	1,4285	13,9

Die Tabelle zeigt, daß diese Methode zu gut brauchbaren Ergebnissen über die enterale Resorption des g-Strophanthins nicht führt. Die gebrauchten Zeiten und mit ihnen die tödlichen Dosen liegen zu weit auseinander. Die kürzeste Titrationsdauer war 4 Stunden 10 Minuten, die längste 7 Stunden 45 Minuten, also fast doppelt so lang. Aus den Versuchen von Heubner und v. Nyáry, die sich mit der Kumulation der Digitalissubstanzen befassen, ist bekannt, daß beim g-Strophanthin mit der Verlängerung der Titrationszeit auch die tödliche Menge zunimmt. Es war zu erwarten, daß bei so verschiedener Titrationsdauer die tödliche g-Strophanthinmenge ebenfalls verschieden sein werde. Unser niedrigster Wert entspricht der 14fachen Magnus-Hatcher-Dosis, der höchste Wert hingegen dem 22fachen der genannten Dosis.

In einer weiteren Versuchsreihe schlugen wir einen anderen Weg ein, und zwar bemühten wir uns, den Wirkungskoeffizienten enteral/intravenös festzustellen. Wir suchten die kleinste enteral gegebene g-Strophanthinmenge, die in zeitlich nichtbegrenzter Wirkungsdauer das Herz zum Stillstand zu bringen vermag.

Es wurde unter sorgfältiger Beachtung der Regeln der Asepsis in leichter Äthernarkose eine 2,5—3 cm lange mediane Laparatomie angelegt. Dann injizierten wir 5 cm distal vom Pylorus mittels einer dünnen Nadel eine jeweils steigende Menge von g-Strophanthinlösung in der Verdünnung von 1 : 2000 analwärts. Um stets die ganze vorgesehene Menge auch wirklich einzubringen, wurden das Gefäß (in welches die Strophanthinlösung pipetiert worden ist) und die Spritze mit 2 ccm phys. Kochsalzlösung nachgefüllt und der Inhalt eingespritzt. Erbrechen verhüteten wir durch eine subcutane Urethangabe (0,5/kg) $^1/_2$ Stunde vor der Operation. Die Tiere verblieben 1—1,5 Stunden am Operationsbrett, wobei sie durch ein elektrisches Heizkissen gewärmt wurden. Hatte das Tier die kleinste tödliche Menge nicht erhalten, so heilte die Operationswunde innerhalb von 4—5 Tagen per primam zu.

Tabelle 4. Enterale Toxizität des g-Strophanthins bei zeitlich nichtbegrenzter Wirkungsdauer.

Versuch Nr.	Katze Gewicht in g	Magnus-Hatcher-Dosen	Erscheinungen	Tot bzw. lebend nach
1	3700	10	am Operationsbrett plötzlicher Tod	† 1 h 30′
2	3460	10	steter Speichelfluß, Brechreiz	† 24
3	3200	8	liegt, dyspnoisch, Pulsbeschleunigung	† 3
4	2920	7	sitzt ständig, frißt nicht, plötzlicher Tod	† 48
5	3615	7	tot sofort nach Verlassen des Operationsbrettes	† 1 30′
6	3755	6,5	erbricht mehrmals etwas schleimige Flüssigkeit	† 50
7	3180	6	Krämpfe 2 h nach dem Eingriff, rasche Erholung, trinkt am zweiten Tag	* 6 Tagen
8	2855	6,5	Speichelfluß, starke Abmagerung, langsame Erholung	* 8 Tagen
9	2280	6,5	kein Brechreiz, nimmt 4 Tage keine Nahrung, langsame Erholung	* 8 Tagen
10	3240	6	liegt 2 Tage bewegungslos, dann rasche Erholung	* 6 Tagen
11	3285	5	trinkt am nächsten Tag, gesundet rasch	* 4 Tagen
12	2855	5	lebhaft, kein Erbrechen, rasche Erholung	* 4 Tagen

Die Tabelle 4 stellt die enterale Toxizität des g-Strophanthins in nicht begrenzter Wirkungszeit dar. Wir sehen, daß die 5- und 6fache intravenöse tödliche g-Strophanthinmenge zwar toxisch, jedoch nicht tödlich wirkt. Die 5fache Gabe vertrugen die Tiere verhältnismäßig gut. Sie erholten sich rasch, verloren kaum an Gewicht und fraßen am 2., spätestens am 3. Tag. Hingegen verursachte die 6- bis 6,5fache Menge schon bedeutende toxische Schädigungen. Die Tiere bekamen einen raschen und unregelmäßigen Puls, zeigten Ermüdungserscheinungen, Speichelfluß und Brechreiz, lagen auch dyspnoisch und apathisch da. Sie magerten stark ab und vor dem 4. oder 5. Tage nahmen sie keine Nahrung an. Man mußte sie warmhalten und pflegen, und zwar erhielten sie Injektionen von physiologischer Kochsalzlösung und Nährklistiere. Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß die 6,5fache Magnus-Hatcher-Menge nicht mehr von allen Versuchstieren vertragen wurde. Die 7fache Menge wirkt in allen Fällen tödlich. Da bei diesen Versuchen die enterale Wirkung des g-Strophanthins in zeitlich nicht begrenzter Wirkungsdauer geprüft wurde, ist es zur genauen Bestimmung des Resorptionskoeffizienten enteral/intravenös notwendig, diese Versuche zu denen in Tabelle 2 [Dlm. intravenös zeitlos] in Beziehung zu setzen, wie ich dies bei der Bestimmung der enteralen Digilanidresorption bereits durchgeführt habe[19]. Auf diese Weise erhalten wir den Wirkungskoeffizienten enteral/intravenös 7,2. Praktisch bedeutet dies, daß zur gleichen Wirkung des g-Strophanthins enteral eine 7mal so große Menge notwendig ist als intravenös.

[19] Švec: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **179**, 157 (1935).

In einer Versuchsserie sollte nun auch der aus einer Magnus-Hatcher-Dosis in 1,3 und 6 Stunden enteral resorbierte Prozentsatz geprüft werden. Es wurde die von v. Nyáry angegebene Methode mit einer Modifikation benutzt.

Wir laparatomierten in Percainanästhesie. Der Magen wurde durch eine Ligatur vom Duodenum getrennt und in letzteres eine g-Strophanthinmenge von 0,1026 mg/kg injiziert. Um die Anästhesie bis zum zweiten Eingriff zu erhalten, nähten wir einen mit der Percainlösung getränkten Wattebausch mit in die Naht ein. Der nur 8—10 Minuten dauernde Eingriff wurde gut vertragen; die Tiere waren danach lebhaft und ließen keine Zeichen von Beschwerden erkennen. Nach 1 bzw. 3 und 6 Stunden erhielten sie die jeweilig erforderliche Zusatzdosis in leichter Äthernarkose in die vena femoralis infundiert. Aus ihr errechnet sich als Differenz der aus der Magnus-Hatcher-Dosis enteral resorbierte Prozentsatz.

Tabelle 5.
Enterale Resorption des g-Strophanthins. Duodenaldosis 0,1026 mg/kg.

Versuch Nr.	Katze Gewicht in g	Intravenöse Zusatzdosis nach Stunden	mg	mg/kg	% der resorbierten g-Strophanthin	Mittelwert in %
1	2275	1	0,2200	0,0967	5,8	6,0
2	3440	1	0,3313	0,0962	6,3	
3	2045	3	0,1820	0,0889	13,4	
4	2375	3	0,2358	0,0992	3,4	6,7
5	2590	3	0,2480	0,0957	6,8	
6	2410	3	0,2400	0,0995	3,2	
7	2960	6	0,2803	0,0947	7,7	
8	1895	6	0,1633	0,0861	16,1	12,6
9	2580	6	0,2430	0,0942	8,2	
10	3575	6	0,3000	0,0839	18,3	

Zum Unterschied von den Zahlen v. Nyárys, welche wesentlich höher liegen, fanden wir, daß aus der in das Duodenum eingebrachten Magnus-Hatcher-Menge nach 1 Stunde 6%, nach 3 Stunden 6,7% und nach 6 Stunden 12,6% resorbiert worden waren. Wenn die 5fache Magnus-Hatcher-Dosis (Tabelle 4) von den Tieren glatt und ohne besondere toxische Erscheinungen überlebt wird, ist kaum ein höherer Prozentsatz der Resorption von einer Dos. let. min. zu erwarten. Wir vermuten, daß die höheren Werte der Resorption bei v. Nyáry in der verschiedenen Art der Anästhesie begründet sind. v. Nyáry gebrauchte bei beiden Eingriffen die Äthernarkose. Wir haben dagegen die intraduodenale Injektion in Lokalanästhesie durchgeführt, die sich bei diesem kleinen Bauchschnitt sehr gut bewährt hat.

Zur Kontrolle wurden einige Versuche mit zweimaliger Äthernarkose durchgeführt.

Die Tabelle 6 zeigt, daß bei der zweimaligen Äthernarkose sich die Prozentsätze des resorbierten g-Strophanthins den Ergebnissen v. Nyárys nähern. Zwei kurz nacheinander durchgeführte Äthernarkosen wirken toxisch und setzen die Resistenz des Zirkulationssystems gegen Herzgifte herab.

Tabelle 6.
Enterale Resorption des g-Strophanthins. Duodenaldosis 0,1026 mg/kg. Äthernarkose zweimal.

Versuch Nr.	Katze Gewicht in g	Intravenöse Zusatzdosis nach Stunden	mg	mg/kg	% der resorbierten g-Strophanthin	Mittelwert in %
1	2720	3	0,2466	0,0906	11,7	
2	2520	3	0,1813	0,0719	30,0	20,2
3	2535	3	0,2113	0,0833	18,9	
4	3575	6	0,2233	0,0624	39,2	34,4
5	2500	6	0,1807	0,0723	29,6	

Alle bisherigen Versuche haben die geringe Resistenz des g-Strophanthins gegen die Wirkung der gastrointestinalen Säfte bewiesen. Es blieb uns noch übrig, die Resorption des g-Strophanthins im untersten Dünndarm zu studieren, von dem Gedanken ausgehend, daß in diesem Darmabschnitt die Verdauungssäfte weniger zerstörend wirken würden, wodurch ein höherer Prozentsatz der eingeführten Magnus-Hatcher-Dosis herauskommen sollte. Es erwies sich aber als zweckmäßig, vorerst den Darminhalt mit einer physiologischen Kochsalzlösung auszuspülen.

Wir gingen in ähnlicher Weise wie oben vor, indem wir in Percainanästhesie die Bauchhöhle in der Nabelgegend auf etwa 3 cm öffneten. Aus der Tiefe wurde das Coecum hervorgeholt und damit der unterste Teil des Dünndarms in einfacher Weise erreicht. Ein Stück von 20 cm wurde von beiden Seiten durch Ligaturen isoliert und in das Caudalende vor der Ligatur dicht am Coecum eine kleine Glaskanüle eingeführt. Das isolierte Darmstück haben wir analwärts mit Hilfe einer Injektionsspritze mit einer auf 37° C erwärmten physiologischen Lösung sehr vorsichtig durchspült. Während der Durchspülung, in der Dauer von 2—3 Minuten, wurde der Darm warmgehalten. Dann nahmen wir die Glasabflußkanüle heraus, übernähten die Stelle sauber und injizierten die Magnus-Hatcher-Dosis. Bei der Kontrolle mußten wir aber die Feststellung machen, daß der isolierte Abschnitt anaemisch kontrahiert war und in seinem Lumen sich etwas schleimiges Sekret befand. Wir unterließen deshalb die Ligaturen und begnügten uns mit der Durchspülung dieses Darmteiles wie oben geschildert. Nach der Operation waren die Tiere lebhaft und ohne Anzeichen einer Beschwerde. Nach 3 Stunden wurde die letale Zusatzdosis bestimmt.

Die Tabelle 7 zeigt, daß von einer tödlichen Dosis des g-Strophanthins im unteren Teile des durchgespülten Dünndarms nach 3 Stunden 31,6 %

Tabelle 7. Die Resorption des g-Strophanthins im unteren Teile des Dünndarms. Dosis 0,1026 mg/kg.

Versuch Nr.	Katze Gewicht in g	Intravenöse Zusatzdosis nach Stunden	mg	mg/kg	% der resorbierten g-Strophanthin	Mittelwert in %
1	2760	3	0,2000	0,0724	29,5	
2	2220	3	0,1733	0,0780	24,0	
3	3370	3	0,1986	0,0589	42,6	31,6
4	2420	3	0,1666	0,0687	33,1	
5	2630	3	0,1913	0,0727	29,0	

resorbiert werden. Diese Versuche zeigen zwar noch immer große Verluste des g-Strophanthins, wir sehen aber, daß die Verluste durch die Zerstörung im Duodenum und im oralen Teil des Jejunums bedeutend größer sind. Von Duodenum aus resorbiert sich innerhalb 3 Stunden 6.7 %, während in der Nähe des Coecums 31,6 % aufgenommen werden.

Schlußfolgerung.

Die Ergebnisse der Magnus-Hatcherschen Titration (Dos. let. min. des g-Strophanthins 0,1026 mg/kg und zeitlos 90 % des Dos. let. min.) stimmen mit den Angaben anderer Autoren überein.

Es wurde festgestellt, daß bei enteraler Titration (1 ccm/5 Minuten von einer g-Strophanthinlösung 1 : 15000) zur Tötung des Versuchstieres die 14- bis 22fache Magnus-Hatcher-Menge notwendig ist.

Die enteral tödliche Dosis bei zeitlich nicht begrenzter Wirkungsdauer entspricht der 6,5fachen Magnus-Hatcher-Menge. Der Wirkungskoeffizient enteral/intravenös beträgt 7,2, d. h. zur gleichen Wirkung enteral benötigt man eine 7mal so große Menge des g-Strophanthins als intravenös.

Im Duodenum werden aus einer Magnus-Hatcher-Menge in 1 Stunde 6 %, in 3 bzw. 6 Stunden 6,7 und 12,6 % resorbiert.

Wesentlich größer ist die Resorption im untersten Dünndarm; sie beträgt nach 3 Stunden 31,6 % der verabreichten Magnus-Hatcher-Menge.

Aus dem Hygiene-Institut der Universität Rostock.
(Direktor: Prof. Dr. Werner Kollath.)

Das Wachstum und der Zellersatz in der Vitaminforschung.

XIII. Mitteilung. Stoffwechsel-Untersuchungen bei einseitiger Vitamin B_1-Zufuhr.

Von

Werner Kollath.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 22. Dezember 1938.)

In einer früheren Arbeit* wurde die Auswirkung der synthetischen Diät 18 beschrieben. Diese besteht aus Casein sowie Kaliumphosphat, Stärke, Talg; an Zulagen werden gegeben täglich 12 γ Vitamin B_1 (l. c. S. 515). Trotz des hochgradigen Mangels an allen anderen Vitaminen und Mineralien, die als lebensnotwendig angesehen werden, starben die Tiere bei diesen Zulagen nicht in der kurzen Zeit von 3—5 Wochen, wie die Kontrollen ohne Vitamin B_1 oder ohne Kaliumphosphat, sondern lebten bis zu $2^1/_4$ Jahren.

Klinisch zeigten die Tiere keinerlei Krankheitserscheinungen, die mit einem bekannten Vitaminmangel in Verbindung zu bringen gewesen wären. Gelegentliche Reizzustände, Lähmungen, Hautveränderungen gingen wieder vorüber. In den Organen fanden sich Kennzeichen eines schwer gestörten Kalkstoffwechsels, ferner in der Lunge eine besondere Form der Lungenblähung, die Nieren wiesen Schrumpfung ohne Beteiligung der Glomeruli auf. Kalkablagerungen in Herzmuskel, Magenwand, Gefäßen und Nieren waren vorhanden, in letzteren in Form von Kalkzylindern. Insgesamt waren also Veränderungen eingetreten, die sich gewissermaßen als Vorstufen für Alterskrankheiten bezeichnen ließen, ohne identisch mit den ausgeprägten menschlichen Alterskrankheiten zu sein. Das Krankheitsbild wurde als „verfrühtes Altern" bezeichnet.

Angesichts der klinischen Symptomlosigkeit der Tiere, die bei dem wirklichen Nahrungsmangel erstaunlich war, war es von Wichtigkeit, den Stoffwechsel der Tiere zu studieren. Dabei sollte festgestellt werden, ob sich besondere chemisch nachweisbare Änderungen während

* XI. Mitteilung, Naunyn-Schmiedebergs Arch. **189**, 514 (1938).

der Versuchsdauer fanden, die als Mangelfolgen anzusprechen wären. Im folgenden mögen diese Untersuchungen vorgelegt werden.

Versuch 50.

Das Untersuchungsmaterial.

Als Kontrollen wurden 3 Gruppen zu je 4 normalen Ratten verwendet, die im Gesamtgewicht etwas schwerer als die eigentlichen Versuchstiere waren, da die Versuchstiere selbst ja ein wesentlich höheres Alter repräsentierten. Auf diese Weise wurde eine gewisse Angleichung an das Alter erreicht. Als Versuchstiere dienten z. T. die schon früher beschriebenen Tiere, z. T. waren jüngere Tiere eingesetzt.

I. Junge Versuchstiere (10 Monate im Versuch).

Ratte 2212, 2214, 2215, 2222, 2223.

Sektionsbefund der jungen Tiere.

1. Ratte 2212. Gestorben 30. März 1938 mit Springkrämpfen bei Sondenfütterung. Lungen: Kollabiert, blaß. Brustraum: Mit glasklarer Flüssigkeit gefüllt.

2. Ratte 2214. Gestorben 2. Juni 1938 nach Herzpunktion. Nieren: An Grenze von Mark und Rinde stippchenartige Einlagerungen von hellbraun-gelblicher Farbe.

3. Ratte 2215. Spontan gestorben am 4. April 1938. Lungen: Dicke Eiterschicht, die auch das Herz mit überdeckt. Lungen und Pleura sind eitrig verklebt. Herz: Ist vollkommen eingeklebt in die eitrige Masse. Das Pericard ist zäh, dick, mit eitrigem Belag. Es bestehen Verwachsungen des Pericards mit dem Herzen. Reichliche Durchblutung der Herzmuskulatur, sowie Hypertrophie derselben. Ovarien: Das rechte vergrößert. Zu beiden Seiten der Uterushörner findet sich gelbliches Gewebe (Fett?).

4. Ratte 2222. Gestorben 27. Mai 1938 bei Herzpunktion. Weist bei der Sektion keine Besonderheiten auf. Histologisch: Starke Verfettung in der Leber.

5. Ratte 2223. Gestorben 23. Mai 1938 nach Herzpunktion. Schilddrüse: Lage höher als normal. Lungen: Emphysem. Bläschen teilweise mit Brei gefüllt.

Histologische Untersuchung dieser Ratten.

Schwächere Ausbildung der bei dieser Kost typischen Befunde.

II. Alte Versuchstiere.

Ratte 2139 (26 Monate), Ratte 2140 (26 Monate), Ratte 2143 (25 Monate), Ratte 2161 (23 Monate Versuchsdauer).

Während der Versuche starben alle diese wie auch die jungen Versuchstiere.

Sektionsbefund der alten Tiere:

6. Ratte 2139. Spontan gestorben 4. April 1938. Klinisch hatte dieses Tier wiederholt Anfälle von Lähmungen gehabt. Gehirn: Beim Herauspräparieren

der Hypophyse fällt das Gehirn beim Abheben auseinander. Es zeigt sich, daß unterhalb des rechten Vorderlappens, ziemlich nahe zur Hinterlappengrenze, ein Abszeß sitzt. Er weist das Bild einer erbsengroßen Blase auf, die von einer ziemlich dickwandigen Haut umgeben, und innen mit faserig-gelber, eitriger Substanz gefüllt ist. Haut: Innenseite viele Petechien. Halsgegend: Auffallend viele kleine Drüsen (?). Herz: Hypertrophisch? Fettpolster: Bräunlich. Nieren: Stark geschrumpft. Hoden: Rechts atrophisch, links normal.

Histologischer Befund: typisch für Diät 18. (XI. Mitteilung).

7. Ratte 2140. Gestorben bei Wasserverabfolgung 3. März 1938. Lunge: Völlig blutleer und blaß. Das ganze Lungengewebe gebläht. Außerdem zahlreiche Infiltrationen. Randemphysem. Leber: Der zu oberst liegende Lappen sehr deutlich gezeichnet. Die große Leber erscheint wie auseinandergepreßt und umschließt in ihren verschiedenen Teilen ein fast nußgroßes Gebilde, das auf einen Tumor hindeutet, der möglicherweise aus dem Netz herausgewachsen ist. Fettartige Stränge umschließen das Ganze. Das Pankreas erscheint auch hier mit hereinverwachsen zu sein. Jedenfalls ist es bei der weiteren Sektion nicht herauszupräparieren. Nieren: Oberfläche rauh. Bei der rechten Niere sind in dünner Schicht ähnliche Fettstränge aufgelagert, wie sie oben bei dem Tumor beschrieben wurden. Bei beiden Nieren sind die Nebennieren in solchen Verwachsungen verborgen.

Histologischer Befund.

Bei dem Lebertumor handelt es sich um ein Spindelzellensarkom. Es findet sich leichte Schilddrüsensklerose.

Ratte 2143. Gestorben 31. März 1938 nach Herzpunktion. Rechtes Ovarium: Erbsengroße Cyste. Lunge: Randemphysem mit vielen braunen Flecken. Fettpolster: Hellbraun. Nieren: Rauhe Oberfläche, dunkelrot, Schnittfläche weiße Pünktchen.

Histologischer Befund.

Wie 2139, außerdem einige hyaline Nierenzylinder.

9. Ratte 2161. Gestorben 5. April 1938 bei Herzpunktion. Lungen: Randemphysem. Nieren: Bräunlich-rot mit höckeriger Oberfläche. Auf den Schnittflächen grau-bräunliche Farbe mit unklarer Mark-Rindengrenze. In der Zwischenschicht weißliche, kleinste Ablagerungen.

Histologischer Befund.

Nieren Kalkzylinder, ebenso Kalkablagerungen im Herzmuskel.

Von der Wiedergabe der Gewichtskurven wird abgesehen, da sie dem Typus entsprechen, der in der früheren Mitteilung wiedergegeben ist.

Zusammenfassung.

Wir haben also zwei Gruppen von Versuchstieren, von denen die jüngeren (1—5) kaum irgendwelche Veränderungen in den Organen erkennen lassen, während die älteren (6—9) wieder deutliche Schrumpfungen an den Nieren aufweisen. Ratte 2140 hat ein Spindelzellensarkom der Leber, Ratte 2143 eine Cyste im Ovarium.

Versuch 51.

Eigenschaften des 24-Stunden-Sammelharns von normalen und kranken Ratten.

Ausführung: Je vier Tiere kommen in einen vierfach unterteilten Trichter und müssen dort 24 Stunden sitzen bleiben. Jedes Tier bekommt sein Futter und Wasser. Letzteres wird zu Anfang und nach Beendigung des Versuches gewogen. So kann festgestellt werden, wieviel Wasser jedes einzelne Tier in 24 Stunden zu sich genommen hat. Der ausgeschiedene Harn wird in einem Meßglas aufgefangen.

Auf die gleiche Art wird der Versuch mit den Versuchstieren gemacht. Nur erhalten die Tiere erst die tägliche B_1-Dosis, bevor ihnen das Wasser in den Trichter gehängt wird.

Der gewonnene Harn wird qualitativ und quantitativ weiter untersucht. Bei dem 24 Stunden-Sammelharnversuch und dem Diureseversuch werden die alten und die jungen Versuchstiere streng getrennt gehalten.

Versuchs 51a: Normalurin.

3 × 4 Ratten. Gesamtgewicht zwischen 654 und 858 g.

In einigen Versuchen wurde das Verhältnis von aufgenommener Wassermenge und Urinmenge geprüft. Ordnung nach aufgenommener Menge:

Versuchsnummer	15	13	8	21	14
Einnahme	57	42	37	28	26
Ausgabe	42	33	17,5	22,5	21
Differenz	15	9	19,5	5,5	5

Mit Ausnahme des Versuchs Nr. 8 ergibt sich im wesentlichen, daß mit größerer Einnahme auch größere Ausgabe erfolgt.

Farbe: Goldgelb-dunkelgelb. Reaktion: Sauer bis schwach sauer. Eiweiß: Schwach positiv. Zucker: Negativ.

Verhalten von Menge und spezifischem Gewicht.

Die Versuche sind nach der Ausscheidungsmenge geordnet. Es ergibt sich fast einheitlich, daß mit Abnahme der Menge ein erhöhtes spezifisches Gewicht eintritt.

Tabelle 1.

Versuch	Kontroll-nummern	Menge	Spez. Gewicht	Versuch	Kontroll-nummern	Menge	Spez. Gewicht
15	K_3	**42**	**1012**	14	K_1	21	1028
13	K_3	33	1019	5	K_1	16	1030
21	K_2	22,5	1023	2	K_2	13	1042
8	K_2	17,5	1026	3	K_3	**14**	**1042**
1	K_1	17	1027				

Versuch 51b: Urin der Ratten mit Diät 18.

Tabelle 2.

Versuch	Menge	Spez. Gewicht	Versuch	Menge	Spez. Gewicht
Urin der jungen Ratten.			Urin der alten Ratten.		
20	22	1010	4	9	1025
15. III. (2)	18	1017	15. III. (1)	8,5	1030
11	17,5	1017	8. III.	7	1027
9. III.	14,5	1022			

Farbe, Reaktion, Eiweiß, Zucker: Wie Normalurin.

Ergebnis: Bei den jüngeren Versuchsratten besteht wie in der Norm die entgegengesetzte Bewegung von Ausscheidungsmenge und spez. Gewicht. Bei den älteren Ratten ist ein solcher Zusammenhang nicht überzeugend, sondern eher zweifelhaft. Bemerkenswert ist die verhältnismäßig niedrige Ausscheidungsmenge der älteren Ratten, denn im Vergleich zur Norm müßte man bei dem erhaltenen spezifischen Gewicht 16—17 ccm erwarten. Die Aufnahme wurde hier noch nicht geprüft; eingehendere Untersuchungen waren später nicht mehr möglich, da die Tiere gestorben waren.

Die Befunde bei den älteren Ratten lassen folgende Möglichkeiten zu: 1. daß diese Tiere abnorm wenig Wasser aufnehmen, 2. daß sie die festen Bestandteile in höheren Konzentrationen als normal abzugeben vermögen, 3. daß sie Wasser retinieren (siehe unten, Versuch 51c und Versuche 52).

Versuch 51c: Chemische Untersuchungen des Sammelurins.

Es wurden in den erhaltenen Urinen folgende Substanzen bestimmt: Gesamtstickstoff, Reststickstoff, Phosphor, Kohlenstoff, Calcium. Die folgende Tabelle 3 gibt die Übersicht über die Gesamtmengen und die daraus berechneten Werte für die Menge in 1 ccm.

Ergebnis aus Tabelle 3 (s. S. 31).

In der letzten Zeile von Ia der Tabelle 3 sind die Durchschnittswerte aus den 9 Versuchen angegeben. Bei den geringeren Versuchszahlen bei kranken Tieren ist von dieser Durchschnittsberechnung abgesehen. Es sind infolgedessen die Einzelwerte mit den normalen Durchschnittswerten zu vergleichen.

1. Die Menge der chemisch nachgewiesenen Substanzen liegt bei den jungen Tieren an der unteren Grenze der Norm bzw. weiter unterhalb. Besonders gilt das für Ca.

2. Bei den älteren Tieren ist die bestimmte Menge eher normal. Es ergibt sich aber aus dem Vergleich mit Tabelle 2, daß wesentlich geringere Urinmengen ausgeschieden wurden.

Tabelle 3.

Versuch	Gesamt-N		Rest-N		Phosphor		C		Ca	
	1 ccm	Gesamtmenge	1 ccm	Gesamtmenge	1 ccm	Gesamtmenge	1 ccm	Gesamtmenge	1 ccm	Gesamtmenge
	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg
Ia. Ausscheidung im normalen Rattenurin.										
15	11,5	483	9,75	409,75	0,76	31,9	8,85	371,7	0,03	1,26
13	15,2	501,6	13,7	452,1	1,20	39,6	12,02	396,66	0,044	1,452
21	19,6	445	18,3	409,50	2,14	48,15	15,9	357,75	0,133	2,992
(8)	24,1	421,75	20,6	360,50	2,06	36,02	18,75	328,225	0,166	2,905
1	22,9	389,3	—	—	—	—	—	—	—	—
14	24,8	520,8	20,4	428,4	1,76	37,0	16,3	342,3	0,053	1,113
5	22,0	352	15,0	240	2,10	33,6	16,7	267,2	0,121	1,936
2	30,2	392,6	24,2	314,6	3,19	41,5	—	—	—	—
3	30,8	431,2	28,0	392	2,81	39,4	—	—	—	—
Durchchnittswerte . . .	**22,34**		**18,74**		**2,0**		**14,75**		**0,91**	
Ib. Ausscheidung im Urin kranker Ratten.										
Junge Ratten.										
11	10,2	178,5	9,67	169,225	1,84	32,2	8,15	149,325	0,025	0,438
15. III. (4)	6,77	121,86	—	—	—	—	—	—	—	—
20	8,2	180,4	8,2	180,4	1,76	39,12	8,10	178,2	0,019	0,418
Alte Ratten.										
15. III. (3)	19,22	147,37	—	—	—	—	—	—	—	—
4	16,2	145,8	13,4	120,6	—	—	17,8	160,2	—	—

Bezüglich der Gesamtmenge finden wir demnach eine erheblich herabgesetzte Ausscheidung gelöster Stoffe; bei Berechnung auf 1 ccm ergeben sich aber annähernd normale Werte.

Man gewinnt demnach den Eindruck, daß der Gesamtumsatz gegenüber der Norm sowohl bei den jungen, namentlich aber bei den älteren Ratten herabgesetzt ist. Der geringen Ausscheidungsnotwendigkeit entspricht wohl eine geringe Wasseraufnahme. Dadurch entsteht eine verhältnismäßig hohe Konzentration, die bei Berechnung auf 1 ccm die vorliegende Störung verdeckt.

Es ist notwendig, diesen Unterschied zwischen jüngeren und älteren Tieren zu erklären (siehe Versuch 52).

Versuch 51d.

Bestehen auch qualitative Unterschiede? Um diese Frage zu beantworten, wurden die Quotienten von folgenden Werten gebildet: Gesamtstickstoff zu Kohlenstoff, Phosphor zu Kalk, Gesamtstickstoff zu Reststickstoff.

Tabelle 4. Quotienten.

Versuch	$\frac{\text{Gesamt-N}}{\text{C}}$	$\frac{\text{P}}{\text{Ca}}$	$\frac{\text{Gesamt-N}}{\text{Rest-N}}$
	Ia. Normal.		
15	1,299	25,333	1,179
13	1,264	27,273	1,109
21	1,233	16,090	1,071
8	1,285	12,410	1,170
14	1,522	33,208	1,216
5	1,317	17,355	1,467
2			1,248
3			1,1
Durchschnittswerte . .	**1,32**	**21,943**	**1,195**
	Ib. Junge Ratten.		
11	1,252	**73,6**	1,055
20	**1,012**	**92,631**	1,0
	Ic. Ältere Ratten.		
4	0,910		1,209

Es ergibt sich:

1. Bei den jungen Tieren liegt das Verhältnis Ges.-N/C annähernd bei der Norm, bei den älteren unterhalb der Norm.

2. Der Quotient P/Ca liegt bei den jungen Tieren weit oberhalb der Norm. Das ist auf den Kalkmangel des Futters zurückzuführen. Daß keine Rachitis auftritt, beruht auf dem Fehlen wachstumsfördernder Stoffe*. Nur in den Zähnen kommt es, infolge inneren Umbaus, zu fehlerhafter, paraplastischer Knochenbildung (S. Euler u. Kollath, S. 534).

3. Der Quotient Ges.-N/Rest-N muß als normal betrachtet werden.

Qualitative Änderungen dürften demnach vorliegen:

1. Beim C-Stoffwechsel.

Berechnet man die Quotienten der bei den kranken Tieren gefundenen Werte zu den Normal-Durchschnittswerten (D. C. usw. [D = Durchschnitt]), so findet man folgende Tabelle:

* Kollath, Grundlagen der Hygiene, S. 117f. Leipzig, Hirzel, 1937.

Tabelle 5. Quotienten der Durchschnittswerte zu den Einzelwerten.

Versuch	D. Gesamt-N / Gesamt-N	D. Rest-N / Rest-N	D. P / P	D. C / C	D. Ca / Ca
		Jüngere Ratten.			
11	2,19	1,94	1,087	1,81	36,4
15. III.	3,21	—	—	—	47,89
20	2,72	2,29	1,136	1,821	—
		Ältere Ratten.			
15. III.	1,162	—	—	—	—
4	1,378	1,39	—	**0,83**	—

Es ergibt sich bei den älteren Tieren, daß der Quotient Durchschnitt-C/C wesentlich stärker herabgesetzt ist als bei den Stickstoffwerten. Das spricht für eine relativ zu hohe Beteiligung des C-Stoffwechsels gegenüber dem N-Stoffwechsel. Hier müßten weitere Studien die Fragen klären, welche qualitativen Änderungen diesen verschiedenen Quotienten entsprechen. Es könnte sich um ein Gegenstück zur „dysoxydativen Carbonurie" (Bickel) handeln. Da der RQ. sich nicht geändert hat (siehe unten), ist diese Annahme wohl die wahrscheinlichste.

2. Beim Kalkstoffwechsel.

Das Material reicht zur endgültigen Klärung nicht aus, an der Tatsache selbst ist nicht zu zweifeln.

Zusammenfassung zu Versuch 51.

Wir können also sagen:

1. In erster Linie sind quantitative Herabsetzungen bei den B_1-Tieren zu finden.

2. Daneben bestehen geringe qualitative Abweichungen seitens des C-Stoffwechsels, starke seitens des Kalkstoffwechsels.

3. Da die älteren Tiere alle Erscheinungen stärker zeigen, ist die Veränderung der Organe als die primäre Diätfolge anzusehen; die veränderte Leistung ist sekundär durch Organveränderung zu erklären. Die Organveränderung ist Folge gestörter Funktion, aus ihr entstehen neue, andersartige, funktionelle Störungen, die mit histologischen Veränderungen einhergehen.

4. Die Rolle des Wassers ist durch diesen Versuch 51 noch nicht zu klären. Dies erfolgt in dem nächsten Versuch.

Versuch 52.

Diureseversuch an normalen Ratten.

Ausführung: Die Tiere werden gewogen und erhalten je 5 ccm aq. dest. pro 100 g Körpergewicht per os mit der Schlundsonde verabfolgt. Dann werden die Tiere in einen Trichter gesetzt und der ausgeschiedene Harn in einem Meßglas gesammelt und alle 15 Minuten bis zu 3 Stunden und von der dritten bis zur vierten Stunde alle 30 Minuten abgelesen.

Auf die gleiche Art wird der Versuch bei den Versuchstieren ausgeführt. Nur ist die tägliche B_1-Dosis in den 5 ccm aq. dest. pro 100 g Körpergewicht enthalten.

Der Harn wird dann weiter untersucht. Die Farbe wird begutachtet, es wird festgestellt, ob der Harn klar oder trübe ist, Reaktion, spez. Gewicht sowie Eiweiß- und Zuckerproben werden angestellt. Chemisch bestimmt werden bei genügend Harn: Stickstoff, Reststickstoff, Kohlenstoff, Calcium und Phosphor.

Zu jedem Versuch gehören 4 Tiere.

Von einer Wiedergabe der Einzelwerte in Tabellenform wird abgesehen. Statt dessen werden die ermittelten Durchschnittswerte bei Normalratten (——), jüngeren (— — —) und älteren (-----) Diätratten in Kurve I abgebildet.

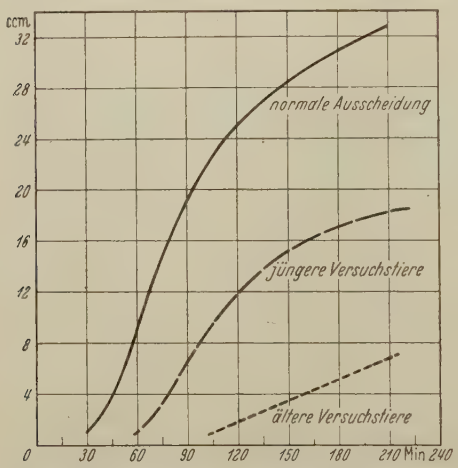


Abb. 1. Diuresekurven: Verspätung des Beginns der Ausscheidung und Unvollständigkeit um 210 Min.

Es ergibt sich, daß mit zunehmendem Alter der Versuchsratten die Ausscheidung später beginnt und in 4 Stunden unvollständiger bleibt. Das geht zahlenmäßig aus Tabelle 7 und 8 hervor:

Die kurze Zeit im Versuch befindlichen Tiere zeigen eine geringe, die lange Zeit im Versuch befindlichen eine erhebliche Verlangsamung der Ausscheidung des verabfolgten Wassers.

Tabelle 6.

Verhalten der verabfolgten und der ausgeschiedenen Menge.

Versuch	Gesamtgewicht	Gesamtmenge	Ausgeschieden	Differenz nach 4 Stunden
	Versuch 52 a. Normaltiere.			
23	858	42,9	29,9	— 13,0
12	800	40,0	37,6	— 2,4
18	771	38,5	40,0	+ 1,5
19	748	37,4	33,4	— 4,0
7	736	36,6	39,8	+ 3,2
12. III.	710	35,5	27,2	— 8,3
12. III.	702	35,1	34,4	— 0,7
9	692	34,6	23,1	— 11,5
11. III.	4 Ratten zu 654 g	32,3	28,2	— 4
	Versuch 52 b. Junge Versuchsratten.			
7. III.	556	22,8	19,0	— 3,8
6	556	22,8	20,5	— 2,3
17	556	22,8	16,6	— 6,2
22	556	22,8	12,0	— 10,8
	Alte Ratten.			
3. III.	575	23,5	7,0	— 16,5
23. III.	575	23,5	4,0	— 19,5
16	575	23,5	7,5	— 16,0

Es wurden nun die Prozentwerte gebildet und daraus für die Norm die Mittelwerte berechnet. Die Werte sind abgerundet. Es ergibt sich:

Die alten Ratten haben also nach 4 Stunden noch etwa $^3/_4$ der verabfolgten Wassermenge nicht ausgeschieden, sondern retiniert. Wir haben also verspäteten Beginn und Verlangsamung der Ausscheidung festzustellen. Es besteht demnach Ödem-„Fähigkeit" (Erklärung dieses Begriffs siehe unten, Versuch 53).

Tabelle 7.

	Ausscheidung	Nicht ausgeschieden
Mittelwerte der Norm.		
In 4 Stunden	86 %	14 %
Jüngere Ratten.		
7. III.	83 %	17 %
6	89	11
17	73	27
22	53	47
Ältere Ratten.		
3. III.	30 %	70 %
23. III.	17	83
16	32	68

Versuch 52c.

Auch bei diesen Urinen wurden die im Versuch vorher bereits angestellten Analysen durchgeführt. Es ergeben sich die folgenden Werte:

Tabelle 8.

Versuch	Gesamt-N		Rest-N		Phosphor		C		Ca	
	1 ccm mg	Gesamtmenge mg	1 ccm mg	Gesamtmenge mg	1 ccm mg	Gesamtmenge mg	1 ccm mg	Gesamtmenge mg	1 ccm mg	Gesamtmenge mg
IIa. Ausscheidung im normalen Rattenurin.										
23	2,27	67,87	2,02	60,40	1,37	40,96	2,25	67,28	0,018	0,54
12	2,6	97,76	2,55	95,88	0,27	10,15	2,95	110,92	0,020	0,752
18	2,69	107,6	2,58	103,2	0,67	26,80	2,50	100,10	0,022	0,88
19	2,24	74,82	2,16	72,14	0,53	17,60	1,85	61,77	0,034	1,136
7	1,88	74,824	1,74	69,252	0,27	10,74	1,83	72,834	0,021	0,836
12. III.	2,97	80,78								
12. III.	3,98	149,67								
9	4,44	102,564	4,06	93,786	0,36	8,32	4,15	95,865	0,038	0,878
11. III.	2,49	70,218								
Durchschnitt:	**2,84**		**2,52**		**0,58**		**2,59**		**0,025**	
IIb. Ausscheidung im Urin kranker Ratten.										
Junge Ratten.										
7. III. (4)	1,87	33,93								
17	2,10	34,85	1,85	30,7	0,62	10,29	2,45	41,3	0,01	0,166
22										
Berauf 4:	1,95	30,4	1,62	25,92			1,90	30,40	0,006	0,072
Alte Ratten.										
3. III.	**4,87**	34,09								
10	7,7	30,8	5,86	23,44			**3,25**	13,0		
	(6,22)	(37,32)	**(4,68)**	(28,08)			**(5,05)**	(30,3)		
16	**5,66**	42,4	**4,45**	33,2			**4,95**	37,24		

Die Werte bei den jungen Tieren liegen wie im Versuch 51c wieder unter der Norm.

Die Werte bei den älteren Tieren liegen über der Norm!

Es besteht demnach eine Differenz gegenüber der Wasserausscheidung: Während diese herabgesetzt ist, werden die gelösten Stoffe leichter ausgeschieden. Man darf daraus wohl auf eine stark verminderte Permeabilität der Nierenepithelien bei den älteren Ratten schließen. Das Verhältnis zwischen Wasserhaushalt und den gelösten Stoffen ist zuungunsten des Wasserhaushalts gestört. Insgesamt kann der spontane Ausgleich wohl nur durch eine herabgesetzte Wasseraufnahme erfolgen. Im Diureseversuch werden die gelösten Stoffe in relativ höheren Konzentrationen ausgeschieden als bei Spontanaufnahme.

Auch hier wurden die Quotienten gebildet wie in Versuch 51d.

Versuch 52d.

Tabelle 9. Quotienten.

IIa. Normal				IIb. Krank			
Versuch	Gesamt-N / C	P / Ca	Gesamt-N / Rest-N	Versuch	Gesamt-N / C	P / Ca	Gesamt-N / Rest-N
23	1,009	76,111	1,124		Junge Ratten.		
12	0,881	13,5	1,020	17	0,857	62,0	1,135
18	1,076	30,455	1,043	22	1,026		1,204
19	1,211	15,588	1,037		Alte Ratten.		
7	1,027	12,857	1,081				
9	1,070	9,474	1,094	10	2,369		1,314
				16	1,143		1,272

Aus dem Vergleich zur Spontanaufnahme ergeben sich bei der Norm niederere Werte beim Ges.-N/C und Ges.-N/Rest-N, mit einer Ausnahme auch bei P/Ca. Die relativ große Flüssigkeitsmenge führt zu kleinen qualitativen Änderungen.

Die jungen Versuchstiere zeigen keine deutliche Abweichung, die älteren aber eine deutliche Erhöhung.

Auch diese Ergebnisse sprechen in dem Sinne, daß Wasser langsamer ausgeschieden wird als die gelösten Stoffe, daß, mit anderen Worten, eine Fähigkeit zu Retention besteht. Ferner bestehen bei den älteren Ratten qualitative Unterschiede gewissen Grades.

Versuch 53.

In weiteren Versuchsreihen wurden Wasseraufnahme und Gewichtskurve miteinander verglichen. Die zweifellos verlangsamte Ausscheidung legte den Gedanken nahe, daß sie zu einer Retention führen könne, die mit Ödem hätte einhergehen können und eine Gewichtszunahme zur Folge hätte haben müssen. Die Untersuchung ergab, daß keine Gewichtszunahme erfolgte, also keine Ödembildung.

Infolge dieses Widerspruchs müssen zwei neue Begriffe zur Klärung eingeführt werden:

1. Ödemfähigkeit: Darunter wird verlangsamte Ausscheidung verstanden.

2. Ödembereitschaft: Hiermit ist die Quellfähigkeit des Gewebes zu verstehen.

Gegen die erstere hilft geringere Wasseraufnahme; die mangelnde Ödembereitschaft im vorliegenden Falle ist durch Zugabe anderer Stoffe experimentell zu erforschen.

Gegen die vorhandene Ödemfähigkeit schützen sich die Ratten durch geringe Spontanaufnahme von Wasser. Zur Beseitigung der Schlacken wird eine höhere Konzentration erreicht.

Versuch 54.

In weiteren Versuchen wurden Respiratorischer Quotient und Sauerstoffverbrauch bestimmt.

54a. Der Respiratorische Quotient (RQ) wurde über längere Zeit ermittelt. Die Kurven des Sauerstoffverbrauchs und der CO_2-Produktion liefen völlig parallel.

Folgende Mittelwerte ergaben sich:

Norm: 0,75—0,9, Mittel etwa 0,8.
Junge Ratten: 0,71—0,75.
Ältere Ratten: 0,71—0,75.

Die Werte sind als normal anzusehen.

54b. Der Sauerstoffverbrauch pro 1 g Ratte (Grundumsatz!) wurde in halbstündigen Messungen bestimmt. Infolge der großen Unruhe der Ratten zeigten sich starke Schwankungen, aber der RQ blieb praktisch konstant. Als Grundumsatz wurden deshalb die Mittelwerte aus den beiden gefundenen Mindestwerten errechnet. Er schwankte bei den Kontrollen zwischen 1,1 und 1,4 ccm, durchschnittlich bei 1,2 ccm.

Die jungen kranken Ratten zeigten einen Verbrauch von 1,1 und 1,5 ccm/g Ratte; die älteren 1,35, 1,25 und 1,15. Insgesamt also meist ein Verbrauch an der unteren Grenze der Norm.

Zusammenfassung.

1. Bei Ratten, die mit der synthetischen Diät 18 über ein Jahr bis 26 Monate am Leben gehalten waren, wurden Stoffwechseluntersuchungen ausgeführt.

2. Beim Spontan-Urin wurde das Verhalten des spezifischen Gewichts bestimmt, ferner wurden Analysen von Gesamt-N, Rest-N, Phosphor, C und Ca vorgenommen (Versuch 51a).

3. Diurese-Versuche: Die Wasserausscheidung bei den Tieren wurde studiert. Bei dem ausgeschiedenen Urin wurden die gleichen Bestimmungen wie in Versuch 51 durchgeführt (Versuch 52).

4. Es ergab sich, daß mit zunehmendem Alter der Versuchstiere eine erhöhte Fähigkeit zur Wasserretention eintritt, während eine Ödembereitschaft nicht nachzuweisen ist. Das wird unter anderem mit dem Fehlen von Kochsalz in der Kost erklärt, dessen Anwesenheit eine der Voraussetzungen für Wasserretention ist. Die Begriffe „Ödemfähigkeit" und „Ödembereitschaft" werden erklärend aufgestellt.

5. Die gelösten Stoffe zeigten meist unternormale Werte bezüglich der Gesamtmenge. Auf 1 ccm berechnet wiesen die älteren Tiere aber höhere Konzentrationen auf, die wieder mehr der Norm entsprachen. Das ging aber mit geringer Wasseraufnahme und -ausscheidung einher.

6. Die Grundumsatzbestimmung ergab Werte an der unteren Grenze der Norm.

7. Der RQ liegt mehr bei 0,71, bei der Norm mehr bei 0,8.

8. Qualitative Unterschiede fanden sich angedeutet bei Berechnungen über das Verhältnis von N- und C-Stoffwechsel. Ausgesprochener Mangel fand sich beim Kalkstoffwechsel.

9. Insgesamt lagen die erhaltenen Werte an der unteren Grenze der Norm, so daß man neben der Störung der Wasserausscheidung von „unternormalen Lebensvorgängen" reden darf.

10. Bei den älteren Tieren fanden sich Anzeichen für eine höhere Neigung zu Neubildungen: Cysten, Spindelzellensarkom.

Literatur.

[1] Kollath u. Giesecke: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **189**, 514 (1938). — [2] Euler u. Kollath: Ebenda **189**, 530 (1938). — [3] Kollath: Klin. Wschr. **1938**, S. 617.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin.

Studien über Methämoglobinbildung.

XIII. Mitteilung: Pyridin.

Von

Herbert Riedel.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 15. Januar 1939.)

Bei den Untersuchungen über die Methämoglobinbildung durch Harn[1] wurde in Vorversuchen die Beobachtung gemacht, daß Pyridin in verdünnter wässriger Lösung mit defibriniertem hämolysiertem Blut spektroskopisch einen Absorptionsstreifen in der Gegend von 620–640 mμ aufwies, der dem des sauren Methämoglobins sehr ähnlich sah. Dieser Befund gab die Anregung zu der vorliegenden Untersuchung.

Die Versuchsanordnung bestand einfach darin, daß verschieden starke wässrige Pyridinlösungen mit verschieden großen Mengen 25%iger defibrinierter hämolysierter Blutlösung gemischt und im Handspektroskop bei 1 cm Schichtdicke beobachtet wurden.

Dabei zeigte sich z. B. beim Vermischen von

10 ccm Wasser
5 ccm einer defibr. hämol. 25%igen Rinderblutlösung,
20 Tropfen Pyridin reinst D. Ap. V. Schering

nach einer Stunde ein deutlicher Absorptionsstreifen im Roten, der nach Zusatz von Stokesschem Reagens verschwand.

Dieser Versuch ließ sich unter den gleichen Bedingungen immer mit dem gleichen Ergebnis wiederholen. Bei Sauerstoffabwesenheit war in der gleichen Anordnung nach einer Stunde kein Methämoglobinstreifen zu beobachten; nach zwei Stunden erschien eine Verschattung weit im Roten, die auch nicht für die Anwesenheit von Methämoglobin sprechen konnte. Der Streifen ähnelte vielmehr dem des sauren Hämatins.

Um die Möglichkeit auszuschließen, daß etwa Verunreinigungen des Pyridins für die vermutete Methämoglobinbildung in Betracht kommen könnten, wurde Pyridin reinst D. Ap. V. von Schering-Kahlbaum mehrmals im Teilvakuum bei 70° (Kp. des Pyridins 116°) überdestilliert. Das Destillat zeigte mit Blutlösung in jedem Falle den beschriebenen Absorptionsstreifen. Weiterhin wurde konzentrierte Chlorzinklösung mit Pyridin versetzt, wobei sich eine Pyridin-Chlorzinkverbindung als dicker käsiger Niederschlag ausschied. Dieser Niederschlag wurde durch mehrmals wiederholtes Spülen

[1] Riedel, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **190**, 224 (1938).

mit dest. Wasser auf der Nutsche von etwa noch anhängendem Pyridin befreit, mit Natronlauge zerlegt und die entstandene Natriumzinkat-Pyridinlösung der Destillation unterworfen. Das übergehende Pyridin-Wassergemisch rief in Blutlösung ebenfalls die beschriebene Absorption hervor.

Nach den obigen Befunden muß es also das Pyridin selbst sein, das diese Erscheinung erzeugt.

Zur genaueren Ausmessung der Absorptionsbande wurde das Gitterspektroskop nach Schumm[2] benutzt. Mit Hilfe eines Heliumspektrums wurde eine Eichkurve angelegt, in deren Ordinate die Wellenlängen und in deren Abszisse die Skalenablesung eingetragen war. Durch Errichtung von Senkrechten in den Wellenlängenwerten der wichtigsten Heliumlinien und den dazugehörigen abgelesenen Skalenwerten ergab sich eine Eichkurve, die es leicht gestattete, die Lage eines Absorptionsstreifens in mμ anzugeben (Abb. 1).

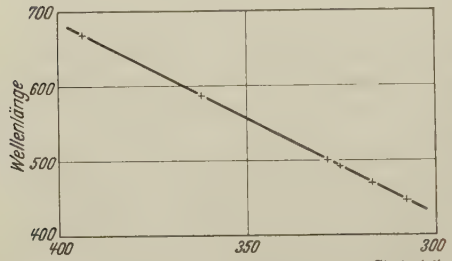


Abb. 1.

Gegenüber den Bestimmungen von Fischer[3] fanden sich keine Abweichungen, so daß dessen Werte für sechs verschiedene Heliumlinien in obiger Kurve direkt benutzt werden konnten.

	Wellenlänge	Skalenteile
Rot	668 mμ, schwach	= 393,5
Gelb	588 mμ, blendend hell	= 362
Grün	502 mμ, sehr stark	= 328,7
Grün	492 mμ, stark	= 325,5
Blau	471 mμ, stark	= 316,5
Indigo	447 mμ, stark	= 307,8

So trat beim Mischen von

20 ccm Wasser,
40 Tropfen 25%iger defibr. hämolys. Rinderblutlösung und
10 Tropfen Pyridin

nach 24stündigem Stehen bei 3 cm Schichtdicke ein Absorptionsstreifen zwischen 620 und 638 mμ auf. Ab 588 mμ war Verdunkelung nach Violett, ab 658 mμ allmählich nach Rot vorhanden (Spektrum 1).

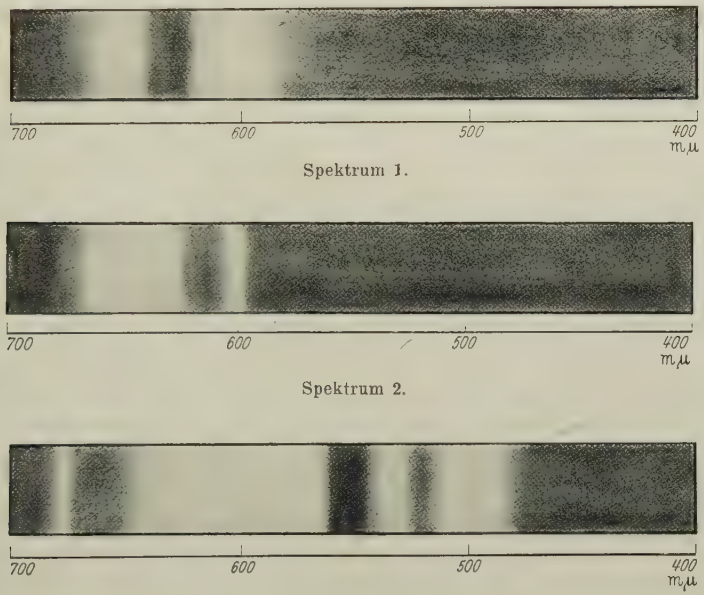
Nach Zusatz von Stokesschem Reagens verschwand der Streifen zwischen 620 und 638 mμ.

[2] Schumm, O.: Spektroskopie, Jena 1909, S. 32. — [3] Fischer, R.: Biochem. Z. **125**, 22 (1921).

Es kann somit als sicher gelten, daß es sich bei dem in Pyridinlösung entstandenen Umwandlungsprodukt des roten Blutfarbstoffs um Methämoglobin handelt.

Wurde der gleiche Versuch angesetzt, jedoch statt mit Stokesschem Reagens mit Natriumhydrosulfit $Na_2S_2O_4$ reduziert, so verschwand zwar die Absorption zwischen 620 und 638 mμ, dafür tauchte aber im Gebiet zwischen 604 und 624 mμ eine schwächere Auslöschung auf. Ab 596 mμ begann scharf die Verdunkelung nach Violett, ab 658 allmählich nach Rot (Spektrum 2).

Wurde zu reinem Pyridin tropfenweise 25%ige Blutlösung zugesetzt, von der entstandenen Fällung abfiltriert und das Filtrat beobachtet,



Spektrum 1.

Spektrum 2.

Spektrum 3.

Abb. 2.

so fanden sich die Streifen des sogenannten Pyridinhämochromogens, die nach Zusatz von $Na_2S_2O_4$ besonders scharf hervortraten:

Ein sehr deutlicher Streifen zwischen 546 und 562 mμ und ein etwas schwächerer Streifen zwischen 514 und 528 mμ (Spektrum 3).

Ziemlich weit im Roten lag zwischen 648 und 678 mμ die von Dilling[4] beschriebene Absorption, die er u. a. beim Behandeln von Pyridin mit Hämatin erhalten hatte.

[4] Dilling, W. D.: Atlas der Kristallformen und der Absorptionsbänder der Hämochromogene, S. 58. Verl. Ferd. Enke, 1910.

Verdünnte und konzentrierte Pyridinlösungen verhielten sich also Blutlösungen gegenüber ganz verschieden. Die einen bildeten Methämoglobin, während bei den anderen die Hämochromogenbildung im Vordergrund stand.

Bei einem heterocyclischen Körper wie dem Pyridin, das nach Ansicht maßgebender Autoren[5] ja eine ziemlich stabile Verbindung darstellt, ist es schwer, eine einfache Erklärung für die Methämoglobinbildung zu finden. Einen Anhaltspunkt bietet vielleicht die Tatsache, daß Pyridinhämin[6] bestimmte chemische Prozesse katalytisch beschleunigen kann. Möglicherweise können dies auch Pyridin-Hämatin oder Pyridin-Hämochromogen. Die Voraussetzungen zu deren Entstehung sind ja in den oben beschriebenen Versuchen gegeben.

Die häufige Verwendung von Pyridin und Pyridinverdünnungen zu Ausschüttelungen und Elutionen ließ es ratsam erscheinen, auf die Möglichkeit der Methämoglobinbildung beim Zusammenbringen von Pyridin mit Blutlösungen besonders hinzuweisen.

Zusammenfassung.

Es wird gezeigt, daß eine verdünnte wässerige Lösung von reinem Pyridin mit hämolysiertem Blut Methämoglobin entstehen läßt.

---

[5] Schmidt, J.: Kurzes Lehrbuch der Organischen Chemie, S. 671, Verl. Ferd. Enke 1922. — [6] Kalmus, E.: Z. physiol. Chem. **70**, 217 (1910); R. Kuhn u. K. Meyer: Ebenda **185**, 209 (1929); P. Rona, R. Asmus u. H. Steinek: Biochem. Z. **250**, 151 (1932); T. Mori, K. Okunuki u. Yakushiji: Acta phytochim. (Tokyo) **10**, 81 (1937).

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Göttingen
(Direktor: Prof. Dr. H. Straub †)
und dem Pharmakologischen Institut der Universität Köln
(Direktor: Prof. Dr. Dr. J. Schüller).

Über die Beziehungen zwischen Schilddrüse und Hypophysenvorderlappen bei A-Avitaminose und A-Hypervitaminose.

Von

Ernst Schulze und **Gerhart Hundhausen.**

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 28. Dezember 1938.)

Die Beziehungen zwischen Vitamin A und dem Hormon der Schilddrüse sind durch zahlreiche experimentelle Arbeiten sichergestellt und geklärt.

Thyroxin reagiert in vitro mit Vitamin A bzw. seiner Vorstufe Carotin [1, 2, 3]. Im Tierversuch vermindert Thyroxinzufuhr die Vitamin A-Reserven des Organismus[1, 2, 1, 5, 6, 7, 8, 9]; die dabei mobilisierten Kohlenhydratbestände werden durch Vitamin A geschützt[1, 10, 11, 12, 13, 14; 4, 14]. Der durch die Thyroxinvergiftung verursachte Gewichtssturz wird durch Vitamin A aufgehalten[1, 11, 15, 16], und umgekehrt verhindert Thyroxin die durch Vitamin A hervorrufbare Gewichtszunahme[17, 18]. Der durch Thyroxin gesteigerte Grundumsatz fällt bei gleichzeitiger Verabreichung von Vitamin A[15]; bei A-Avitaminose erhöht sich der Grundumsatz und wird bei A-Hypervitaminose gesenkt [19, 20]. Die Umwandlung von Carotin in Vitamin A erfolgt nur unter Gegenwart von Thyroxin [7, 21]. Entsprechende Thyroxinzufuhr verhindert die Folgen, selbst den tödlichen Ausgang einer A-Hypervitaminose[4]. Vitamin A-Gaben senken den Blutjodspiegel [8, 17]. Bei gleichzeitiger Zufuhr von Vitamin A und Thyroxin finden sich im Blute keine erhöhten Jodwerte. Vitamin A hebt den Schutz weißer Mäuse gegen Acetonitril durch Thyroxin auf[3]; in ähnlicher Weise wird der Kaulquappenversuch von Gudernatsch durch Vitamin A ge-

---

[1] v. Euler, H., u. E. Klussmann: Hoppe-Seylers Z. **213**, 21 (1932). — [2] Abelin, I.: Ebenda **217**, 109 (1933). — [3] Fleischmann, W., u. S. Kann: Wiener klin. Wschr. **1936**, S. 1488; Biochem. Z. **292**, 296 (1937). — [4] Fasold, H., u. H. Peters: Z. exper. Med. **92**, 57 (1933). — [5] Schneider, E.: Arch. klin. Chir. **181**, 575 (1935). — [6] Parhon, C. J., u. G. Werner: C. r. Soc. Biol. **118**, 1659 (1935). — [7] Wendt, H.: Münch. med. Wschr. **1935**, S. 1679. — [8] Löhr, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **180**, 353 (1936). — [9] Sure u. Buchanan: J. Nutrit. **13**, 521 (1937). — [10] Schneider, E.: Dtsch. Z. Chir. **242**, 189 (1934). — [11] Bottacin, C., u. R. Varo: Ber. Physiol. **101**, 257 (1937). — [12] David, C.: Z. exper. Med. **104**, 397 (1938). — [13] Bauereisen, E.: Z. exper. Med. **103**, 145 (1938). — [14] Steffen, F., u. Th. Zois: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **189**, 75 (1938). — [15] Abelin, I.: Z. Vitaminforsch, **4**, 120 (1935). — [16] Mosonyi, J.: Hoppe-Seylers Z. **237**, 173 (1936). — [17] Fasold, H.: Monatsschr. Kinderheilk. **62**, 28 (1934). — [18] Löhr, H.: Med. Welt **1936**, S. 553. — [19] Chevallier, A., u. H. Baert: C. r. Soc. Biol. **116**, 1077 (1934). — [20] Chevallier, A.: Ann. de Physiol. **12**, 708 (1936). — [21] Fasold, H., u. E. R. Heidemann: Z. exper. Med. **92**, 53 (1933).

hemmt[3, 18]. Selbst in fernerliegenden Thyroxinwirkungen erweist sich der Einfluß des Vitamin A. Der durch vermehrte Zufuhr von Schilddrüsenhormon auftretende Verlust von Ascorbinsäure in Nebennieren und Leber wird durch Vitamin A-Zufuhr aufgehoben[16]. Die thyreotoxische Kreatinurie, die Verminderung des Gesamtkreatins durch Thyroxin wird durch Vitamin A rückgängig gemacht[11, 22, 14]. Vitamin A verhindert den bei Thyroxinzufuhr beobachteten Serumlipasesturz[23].

Stepp, Kühnau, Schroeder[24] fassen zusammen: „daß das Vitamin A ein direkter Antagonist des Thyroxins ist".

Die Klinik zieht aus den experimentellen Ergebnissen den Schluß, daß bei Morbus Basedow Vitamin A empfohlen werden soll[10, 18, 25, 26, 27], ohne daß allerdings bisher hervorragende Besserungen von dieser Behandlung gesehen wurden[28].

Demgegenüber ist die Frage, wie sich Vitamin A zu dem die Schilddrüse zur Produktion von Thyroxin anregenden thyreotropen Hormon des Hypophysenvorderlappens verhält, noch durchaus ungeklärt.

Schneider[10] vermißt eine Einwirkung des Vitamin A auf die schilddrüsenstimulierende Fähigkeit des thyreotropen Hormons; er verlegt den Angriffspunkt des Vitamin A ganz in die Peripherie. Mit der gleichen Versuchsanordnung kommen jedoch Elmer, Giedosz und Scheps[29] und Fellinger und Hochstädt[30] zu dem entgegengesetzten Ergebnis, daß Vitamin A die durch thyreotropes Hormon erzeugbare Hypertrophie und Aktivierung der Schilddrüse zu verhindern imstande ist.

Die Frage erschien uns wichtig genug, um sie mit anderer Methodik anzugehen und den Versuch einer Klärung zu unternehmen. Wir untersuchten in dieser Absicht die Schilddrüsen junger Ratten, die Vitamin A-frei ernährt worden waren, und von solchen Tieren, die durch vermehrte Zufuhr von Vitamin A das Bild einer Hypervitaminose boten. Gleichzeitig wurden die jeweils den einzelnen Schilddrüsen entsprechenden Hypophysen der Tiere auf ihren Gehalt an thyreotropem Hormon geprüft. Auf diese Weise wurden mit den beiden extremen Möglichkeiten der Vitamin A-Zufuhr klar zu übersehende Verhältnisse und eine Versuchsanordnung geschaffen, die einen vollständigen Überblick über die Beziehungen des Vitamin A zu dem System: Thyreotroper Anteil des Hypophysenvorderlappens (H. V. L.)—Schilddrüse zu geben versprach.

Die für den Versuch bestimmten jungen Ratten wurden sämtlich auf die von Osborn-Mendel[31] angegebene Diät mit der von denselben Autoren empfohlenen Salzmischung gesetzt. Auf 1 kg der fertigen Kostmischung kamen 5 ccm eines im Verhältnis 1 : 300 mit vitaminfreiem Arachisöl verdünnten Vigantols.

[22] Fischer, G., u. C. Oehme: Klin. Wschr. **1937**, S. 1453; s. jedoch 14. — [23] Török u. Neufeld: Z. exper. Med. **103**, 69 (1938). — [24] Stepp, Kühnau, Schroeder: Die Vitamine **1936**, S. 13. — [25] Wendt, H.: Klin. Wschr. **1935**, S. 9; Münch. med. Wschr. **1935**, S. 1160; Med. Klinik **1936**, S. 27. — [26] Löhr, H.: Med. Welt **1937**, S. 111. — [27] Tislowitz, R.: Schweiz. med. Wschr. **1937**, S. 717. — [28] Reinwein, H.: Med. Klinik **1937**, S. 359. — [29] Elmer, Giedosz u. Scheps: C. r. Soc. Biol. **120**, 560 (1935). — [30] Fellinger, K., u. O. Hochstädt: Wien. klin. Wschr. **1936**, S. 1339. — [31] Bomskov, Chr.: Methodik d. Vitaminforschung **1935**, S. 36.

Die Tiere wurden in vier Gruppen zu je 10 eingeteilt, die sich im einzelnen nur durch die verschiedene Zufuhr von Vitamin A unterschieden. Die 1. Gruppe erhielt überhaupt keine A-Vitaminzulage. Die Tiere der 2. — als Kontrolle gedachten — Gruppe bekamen zweimal in der Woche gesondert je 0,1 ccm Vogan 1 : 100. In Gruppe 3 wurde täglich jedem Tier je 0,2 ccm unverdünntes Vogan verfüttert. Gruppe 4 wurde wie Gruppe 2 behandelt und erhielt zusätzlich — als Kontrolle zu Gruppe 3 — täglich je Tier 0,2 ccm eines Vogan, das 6 Stunden in flachen Schalen ultravioletter Bestrahlung ausgesetzt worden war.

Die Tiere saßen zu je 5 in geräumigen Käfigen, in denen Vorsorge dafür getroffen war, daß Koprophagie vermieden wurde. Vor Beginn des Diätregimes wurde bei der Fütterung durch Ausmerzung aller Vitamin A-reichen Nahrungsmittel darauf geachtet, daß mit der Kost nur ungefähr der Bedarf an Vitamin A gedeckt wurde. Trotz dieser Vorsichtsmaßregel sollte sich zeigen, daß die „run out time" im Avitaminoseversuch ziemlich lange dauerte.

Am Ende der für die einzelnen Gruppen verschieden langen Versuchszeit wurden die Ratten durch Nackenschlag getötet und ihre Schilddrüsen nach Wägung zur histologischen Verarbeitung* in Formalin fixiert. Die Hypophysen der Tiere wurden steril entnommen, gewogen und darauf infantilen Meerschweinchen (150 bis 175 g) intraperitoneal injiziert. Jedes Empfängertier erhielt 2 Hypophysen in Abständen von 24 Stunden einzeln zugeführt. Nach weiteren 24 Stunden wurden die Meerschweinchen getötet und ihre Schilddrüsen histologisch untersucht.

Die Beurteilung der Rattenschilddrüsen erfolgte nach den von F. Kampelmann[32] angegebenen Kriterien (I—II—III—IV—V); die der Meerschweinchen-

aktiv——————inaktiv

schilddrüse nach der von Heyl und Laqueur[33] aufgestellten Stufenfolge (*p—q—r—s—t—u*).

inaktiv——————aktiv

Während der Dauer des Versuches wurden die Ratten fortlaufend gewogen und ihr Allgemeinzustand und ihr besonderes Verhalten beob-

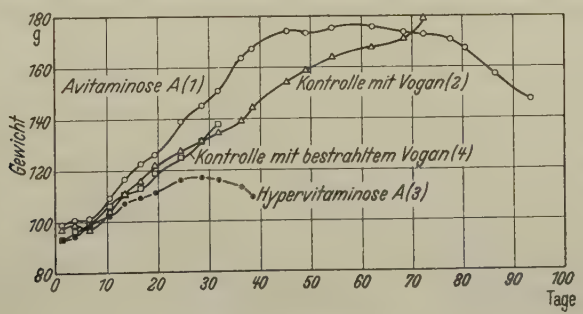


Abb. 1. Gewichtskurve.

achtet. Abb. 1 gibt die aus den Mittelwerten berechnete Gewichtskurve der 4 Versuchsgruppen wieder.

---

* Für die freundliche Überlassung eines Arbeitsplatzes hierzu im Pathologischen Institut der Universität Göttingen sind wir Herrn Prof Dr. Gg. B. Gruber zu großem Dank verpflichtet.

[32] Kampelmann, F.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **184**, 139 (1937). —
[33] Heyl, J. G., u. Laqueur, E.: Arch. intern. Pharmacod. et Thér. **49**, 338 (1934).

Die Kontrolltiere mit Zulage von Vogan bzw. bestrahltem Vogan entwickelten sich auf der Kost ausgezeichnet und nahmen ganz gleichmäßig an Gewicht zu, so daß ihre Gewichtskurve einer Geraden entspricht. Ihr Allgemeinzustand war während der ganzen Versuchszeit sehr gut. Gruppe 4 wurde in ihrer Eigenschaft als Kontrolle zu Gruppe 3 nach 32 Tagen abgebrochen. Die Tiere hatten in dieser Zeit 40 g (= 42% ihres Anfangsgewichtes) zugenommen. Die Tiere der mit Gruppe 1 weitergeführten Kontrollgruppe 2 hatten in 75 Tagen ihr Gewicht nahezu verdoppelt und 83 g zugenommen (= 87% Gewichtszunahme). Die auf Avitaminose A-Diät gesetzten Tiere nahmen zunächst sehr steil an Gewicht zu und entwickelten sich sehr gut. Am 46. Tag hatten sie bereits 75 g (= 75 %) an Gewicht zugenommen. Dann trat Gewichtsstillstand ein, und die Tiere hielten sich etwa 23 Tage auf diesem Gewicht; schließlich setzte zwischen dem 60. und 70. Versuchstag ein Gewichtssturz ein. Schon 14 Tage vorher zeigten sich die ersten Anzeichen einer Verschlechterung des Allgemeinbefindens der Tiere. Die Lider wurden geschwollen und gerötet. Das Fell verlor seinen Glanz und wurde struppig. Der Appetit verschlechterte sich. Nach 3 Wochen zeigten mehrere Tiere deutliche Zeichen von Xerophthalmie. Die Tiere kamen allmählich in einen elenden Zustand, die Freßlust hatte fast ganz nachgelassen, teilweise trat Durchfall auf. Nachdem am 84. und 86. Versuchstag je ein Tier spontan eingegangen war (diese Tiere wurden zu Hypophysenübertragungen nicht mehr verwandt), wurden am 93. und 94. Versuchstag die restlichen 8 Tiere durch Nackenschlag getötet und ihre Hypophysen übertragen. Die Tiere hatten, auf das Höchstgewicht am 55. Tage bezogen, 30 g (= 17%) an Gewicht verloren. Die auf Hypervitaminose A-Diät gesetzten Tiere blieben in der Gewichtszunahme hinter ihrer Kontrolle zurück. Am 30. Tage hatten sie bloß 23 g (= 24%) an Gewicht zugenommen, gegenüber 35 g (36%) der Kontrolle. Trotz dieser Gewichtszunahme zeigten sich schon vom 14. Tage an Störungen im Allgemeinbefinden der Tiere. Das Fell wurde glanzlos und struppig, die Augen gerötet. Nachdem die Tiere 4 Wochen auf der Diät gehalten worden waren, wurde der Gang steif und ungeschickt; die Tiere verfielen z. T. in Apathie. Es begann nun auch eine deutliche Gewichtsabnahme. Der Allgemeinzustand wurde sehr schlecht, und nachdem die Tiere am 38. Versuchstag 7 g (= 7,5%) an Gewicht verloren hatten, wurden sie je zur Hälfte an zwei aufeinanderfolgenden Tagen durch Nackenschlag getötet und ihre Hypophysen übertragen.

Die Befunde von Schilddrüse und Hypophyse (und auch das Ergebnis der Wägung der Nebennieren) sind für die einzelnen Gruppen in den folgenden 4 Tabellen mitgeteilt:

Aus den Tabellen geht hervor, daß sich die Schilddrüsen der beiden Kontrollgruppen bei der histologischen Auswertung im Mittel etwas weniger aktiv, als der Stufe III entspricht, verhielten. Für die Versuchsgruppe 2 errechnet sich ein Mittelwert von 3,4; für die Versuchsgruppe 4 ein solcher

Tabelle 1. Versuchsgruppe 1.

Ratte Nr.	Anfangskörpergewicht in g	Endkörpergewicht in g	Gewicht der Nebennieren in mg	Tätigkeitszustand der Schilddrüse	Gewicht der Schilddrüse in mg	Gewicht der Hypophyse in mg	Meerschweinchen Ms., dem die beiden vorstehenden Hypophysen übertragen wurden	Tätigkeitszustand der Schilddrüse dieses Tieres	Gewicht der Schilddrüse in mg
31 ♂	110	120	33	II/III	20	10	nicht übertragen; Spontanexitus		
38 ♀	90	130	29	III/IV	20	10	nicht übertragen; Spontanexitus		
32 ♂	105	155	24	III	19	8	Ms. 24	s	38
37 ♀	100	160	34	III	19	9			
33 ♂	90	135	38	II/III	15,5	6	Ms. 25	s/t	40
39 ♂	105	145	25,5	III	14	8,5			
34 ♀	100	180	22,5	III/IV	20	10	Ms. 26	s/(t)	46,5
40 ♀	95	150	39	II	24	14			
36 ♂	115	130	30	III	17	7	Ms. 27	t	42
35 ♀	90	160	31	II/III	22	11,5			

Tabelle 2. Versuchsgruppe 2.

Ratte Nr.	Anfangskörpergewicht in g	Endkörpergewicht in g	Gewicht der Nebennieren in mg	Tätigkeitszustand der Schilddrüse	Gewicht der Schilddrüse in mg	Gewicht der Hypophyse in mg	Meerschweinchen Ms., dem die beiden vorstehenden Hypophysen übertragen wurden	Tätigkeitszustand der Schilddrüse dieses Tieres	Gewicht der Schilddrüse in mg
1 ♂	95	190	26,5	III	16	6,75	Ms. 28	s	41
7 ♀	100	200	29	III/IV	16	7			
2 ♂	80	165	22	III/IV	15	5	Ms. 29	r/s	36
9 ♂	95	145	28	III/IV	16	6			
3 ♂	110	210	30,5	II/III	18,5	7	Ms. 30	(r)/s	46
10 ♂	100	170	32	III/IV	18	8			
4 ♀	90	175	24	III	16	9	Ms. 31	(r)/s	42
8 ♂	120	195	24	IV	14	6			
5 ♂	90	145	30	IV	13	5,5	Ms. 32	s/(t)	38
6 ♀	85	160	26	III/IV	17	8			

Tabelle 3. Versuchsgruppe 3.

Ratte Nr.	Anfangskörpergewicht in g	Endkörpergewicht in g	Gewicht der Nebennieren in mg	Tätigkeitszustand der Schilddrüse	Gewicht der Schilddrüse in mg	Gewicht der Hypophyse in mg	Meerschweinchen Ms., dem die beiden vorstehenden Hypophysen übertragen wurden	Tätigkeitszustand der Schilddrüse dieses Tieres	Gewicht der Schilddrüse in mg
16 ♀	90	105	32	IV/V	13	9	Ms. 37	r/(s)	26,5
25 ♂	95	115	38	IV	11,5	6			
20 ♂	105	115	33,5	IV	15	6	Ms. 95	r	33
24 ♂	90	115	34	III/IV	12	6			
21 ♂	105	105	24,5	III/IV	14	7	Ms. 94	r/s	31
18 ♂	90	110	24	III/IV	12	7			
22 ♀	90	110	30	III	13	5,5	Ms. 39	r/(s)	34
17 ♂	100	110	26,5	V	10,5	6			
23 ♀	95	115	27	III	17	7	Ms. 93	s	29,5
19 ♂	95	100	29	IV	16	4,5			

Tabelle 4. Versuchsgruppe 4.

Ratte Nr.	Anfangskörpergewicht in g	Endkörpergewicht in g	Gewicht der Nebennieren in mg	Tätigkeitszustand der Schilddrüse	Gewicht der Schilddrüse in mg	Gewicht der Hypophyse in mg	Meerschweinchen Ms., dem die beiden vorstehenden Hypophysen übertragen wurden	Tätigkeitszustand der Schilddrüse dieses Tieres	Gewicht der Schilddrüse in mg
12 ♂	90	135	29	III	12	6	Ms. 97	s/t	43
14 ♀	110	145	30	III	16,5	9,5			
13 ♀	85	135	32	III	15	7	Ms. 96	(r)/s	31
28 ♀	95	130	31	III	16,5	6,5			
15 ♂	100	140	26,5	IV	12	8	Ms. 34	(r)/s	44
30 ♀	90	125	34	III	14	7			
26 ♀	80	130	33	III/IV	16	8	Ms. 38	s	35
29 ♂	100	150	34	III/IV	11,5	6			
27 ♂	90	125	32	II/III	16	5	Ms. 98	s	37
11 ♀	95	145	28	III/IV	17	8,5			

von 3,2. Die Werte entsprechen den von anderen Untersuchern[32, 34] und auch von uns selbst in früheren Arbeiten[35, 36] für die normale Rattenschilddrüse ermittelten. Die Schilddrüsen der A-Avitaminosegruppe (Mittelwert 2,8) zeigten insgesamt eine leichte Tendenz zur aktiven Seite, ohne daß man im einzelnen — mit alleiniger Ausnahme der Versuchsnummer R 40 — eine besondere Entfernung von dem Normalbild feststellen konnte. Dieser Befund deckt sich nicht mit dem von M. S. Mitzkewitsch[37] in einem Moskauer Institut an jungen A-avitaminösen Ratten erhobenen, nach dem die Schilddrüsen dieser Tiere zwar hypertrophiert, aber im Zustand der Hypofunktion sein sollen. Ebenso wird in der deutschen Zusammenfassung einer finnischen Arbeit[38] mitgeteilt, daß bei A-Avitaminose degenerative Veränderungen und eine Hyperplasie der Schilddrüse beobachtet werde, die zur Entstehung von Kolloiddrüsen und zur Hypofunktion führen. In diesem Zusammenhang sei noch erwähnt, daß Coplan und Sampson[39] bei A-avitaminotischen Ratten weiblichen Geschlechts eine Hypertrophie, dagegen bei männlichen Ratten eine Atrophie der Schilddrüse fanden. Wir sahen bei A-Avitaminose keine aktiven Schilddrüsen (allenfalls beobachteten wir — wie wir das ausdrückten — eine gewisse Neigung zur aktiven Seite), aber wir sahen auch ganz bestimmt keine inaktiven Schilddrüsen. Zu der Arbeit Uotilas können wir nicht Stellung nehmen, da sie uns im Original nicht zugänglich war. Die Unterschiede zu den Befunden von Mitzkewitsch können durch zweierlei bedingt sein: 1. Das Ausgangsgewicht der Tiere von Mitzkewitsch ist etwa nur ein Drittel des von uns gewählten, die Tiere waren also jünger; 2. Mitzkewitsch beurteilte Schilddrüsen an den Folgen einer A-Avitaminose ge-

[34] Linnemann, H.: Noch nicht veröffentlicht. — [35] Dieckhoff, J., u. E. Schulze: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **186**, 462 (1937). — [36] Hundhausen, G., u. E. Schulze: Ebenda (im Druck). — [37] Mitzkewitsch, M. S.: Ebenda **174**, 339 (1934). — [38] Uotila, U.: Ber. Physiol. **102**, 568 (1937). — [39] Coplan, H. M., u. M. M. Sampson: J. Nutrit. **9**, 469 (1935.)

storbener Tiere, während wir die spontan zugrunde gegangenen Tiere aus unserer Beurteilung ausschlossen und nur die Schilddrüsen der Ratten endgültig verwerteten, die wir bei floriden A-Avitaminosesymptomen durch Nackenschlag getötet hatten. Die Schilddrüsen der A-Hypervitaminosegruppe waren fast sämtlich inaktiv oder doch deutlich ruhiger als die Kontrollen (Mittelwert: 3,8). Giedosz[40] gelang das gleiche durch Vitamin A-Zufuhr an der Kaninchenschilddrüse. Uotila[38] fand bei A-Hypervitaminose eine diffuse Hyperplasie und eine leichte Sekretion der Schilddrüse.

In Abb. 2 ist die Verteilung der einzelnen Schilddrüsenwerte für die 4 Versuchsgruppen eingezeichnet.

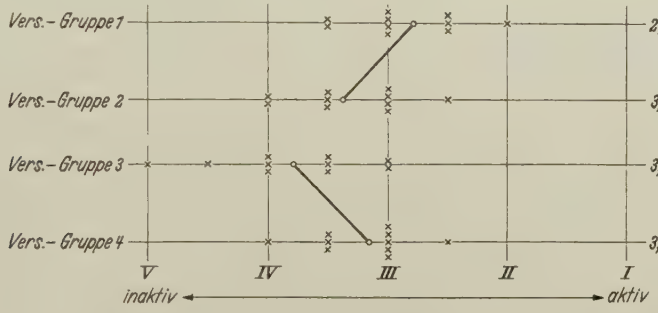


Abb. 2. Tätigkeitszustand der Rattenschilddrüsen.
× Einzeltier.
o Mittelwert der Gruppe (am rechten Rand in Zahlen ausgedrückt).

Den Gehalt der den jeweiligen Schilddrüsen zugehörigen H. V. L. an thyreotropem Hormon bestimmten wir nach der Übertragungsmethode histologisch am Test der infantilen Meerschweinchenschilddrüse. Diese werden um so aktiver, je mehr bei der Übertragung der Hypophysen der Spendertiere den Empfängertieren damit thyreotropes Hormon zugeführt wird. Die Schilddrüsen unbehandelter infantiler Meerschweinchen liegen um die Stufe „*q*". Mit der Übertragung der Hypophysen der beiden Kontrollgruppen 2 und 4 werden die Meerschweinchenschilddrüsen auf „*s*" aktiviert. Eine Aktivierung auf diese Stufe läßt nach unseren früheren Untersuchungen[36] auf einen normalen Gehalt an thyreotropem Hormon in der Rattenhypophyse schließen. Demgegenüber wurde durch die Übertragung der Hypophysen der A-avitaminotischen Tiere eine deutlich stärkere Aktivierung, bis zur Stufe „*s/t*" bewirkt. Die Aktivierung ist stärker, als nach dem Tätigkeitszustand der entsprechenden Rattenschilddrüsen vermutet werden konnte. D. h. der Gehalt des H. V. L. dieser Tiere an thyreotropem Hormon ist größer, als sich das durch die doch nur geringe Neigung zur aktiven Seite der Schilddrüsen der A-Avitaminosegruppe ausdrückt. Bei der A-Hypervitaminosegruppe entspricht dagegen

[40] Giedosz, B.: C. r. Soc. Biol. **120**, 557 (1935).

die geringere Aktivierung der Meerschweinchenschilddrüse auf die Stufe „*r/s*" – als Ausdruck eines geringeren Gehaltes des H. V. L. an thyreotropem Hormon der Ratten – der deutlich ruhiggestellten Schilddrüse dieser Tiere.

Der Unterschied im Ausmaß der Aktivierung der Hypophysen der einzelnen Versuchsgruppen wird durch Abb. 3 verdeutlicht.

Der Abstand zwischen der ausgezogenen Linie, welche die Wirksamkeit der normalen Rattenhypophysen darstellt, und der punktierten Linie, die die Wirksamkeit der A-Hypervitaminose-Hypophysen wiedergibt, sagt aus, daß der Gehalt der Hypophysen dieser Tiere an thyreotropem Hormon vermindert ist. Nach den Tabellen von Heyl und Laqueur[33] beträgt die Minderung gegenüber dem Normalen etwa 30–40 %. Der Abstand der ausgezogenen zu der gestrichelten Linie ist ein Ausdruck

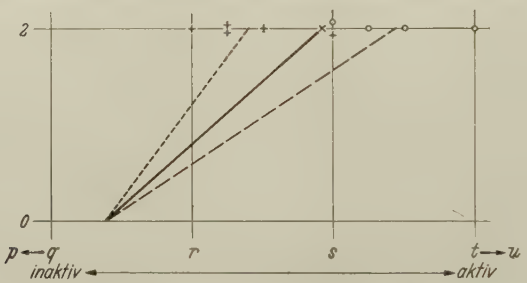


Abb. 3. Veränderungen der Meerschweinchenschilddrüse nach Übertragung von Hypophysen A-hypo- und A-hypervitaminotischer Ratten, sowie der dazugehörigen Kontrollen. Am linken Rand Anzahl der übertragenen Hypophysen angegeben.
\+ Hypervitaminose A (3) (- - - - -).
× Kontrollgruppen (2 u. 4) (————).
o Avitaminose A (1) (— — —).

für die vermehrte thyreotrope Kraft des H. V. L. bei A-Avitaminose. Die Zunahme gegenüber der Norm beträgt nach den eben erwähnten Tabellen etwa 30–40 %.

Entsprechend unserem Vorgehen in früheren Arbeiten[36] haben wir neben der histologischen Auswertung der Schilddrüsen die Gewichte von Schilddrüsen, Hypophysen und Nebennieren der verschiedenen Tiergruppen bestimmt. Eine Übersicht über die gefundenen Werte geben Tabelle 5

Tabelle 5. Organgewichte von Ratten in mg (Mittelwerte) berechnet auf 100,0 g Körpergewicht zu Versuchsbeginn
(Grenzen: ± = doppelter mittlerer Fehler).

Versuchsgruppe	Schilddrüsengewicht	Tätigkeitszustand der Schilddrüsen	Hypophysengewicht	Nebennierengewicht
1	19,0 ± 1,86	2,8	9,4 ± 1,42	30,6 ± 3,52
2	15,95 ± 1,68	3,4	6,8 ± 0,81	27,2 ± 2,05
3	13,4 ± 1,3	3,8	6,3 ± 0,85	29,8 ± 2,86
4	14,6 ± 1,3	3,2	7,1 ± 0,86	30,9 ± 1,6

STON MEDICAL
OCT 21 1939

und 6. Es sind darin die errechneten Mittelwerte jeder Versuchsgruppe eingetragen. Die Grenzen (±) geben den doppelten mittleren Fehler an. Unterschiede, die mehr als das Doppelte des mittleren Fehlers betragen, sind signifikant.

Tabelle 6. Gewichte von Meerschweinchenschilddrüsen in mg nach Übertragung von Rattenhypophysen (Mittelwerte), berechnet auf 100.0 g Körpergewicht.

Versuchsgruppe der Spendertiere	Schilddrüsengewicht	Tätigkeitszustand der Schilddrüsen
1	26,3 ± 2,15	s/t
2	24,1 ± 2,05	s
3	18,4 ± 1,54	r/s
4	23,7 ± 3,06	s

Vergleicht man die gefundenen Mittelwerte der Schilddrüsengewichte mit der histologischen Schilddrüsenbewertung, so stimmen die Ergebnisse beider Methoden gut überein. Die Gewichte der Schilddrüsen, die histologisch einen inaktiven Eindruck machen, sind meist geringer als die der Schilddrüsen, die ein normales Tätigkeitsbild bieten. Ebenso liegen die Gewichte der Schilddrüsen, die histologisch aktiv sind, meist über der Norm. Signifikant sind diese Gewichtsunterschiede jedoch nur zwischen den Schilddrüsen der Hyper- und Avitaminosegruppe. In Vergleich mit den Schilddrüsengewichten der jeweiligen Kontrollgruppen kommen die Unterschiede jedoch signifikanten Werten nahe. Im ganzen ergibt somit die Errechnung der Mittelwerte, auch wenn die Unterschiede nach mathematisch statistischen Gesichtspunkten nicht immer signifikant sind, doch verwertbare Ergebnisse, die die histologische Untersuchung als erwünschte Ergänzung zu stützen geeignet sind.

Die Mittelwerte der Hypophysengewichte entsprechen einerseits dem Tätigkeitszustand der Spenderschilddrüsen, wie auch nach Übertragung dem Tätigkeitszustand der Empfängerschilddrüsen, gemessen an Schilddrüsengewicht und histologischer Bewertung der Schilddrüse. Auch bei den Hypophysengewichten sind die Unterschiede nur teilweise signifikant. Die Mittelwerte der Nebennierengewichte stellen sich in allen 4 Gruppen etwa gleich groß dar; verwertbare Unterschiede zwischen Avitaminose- und Hypervitaminose- oder Kontrolltieren sind nicht vorhanden.

Aus unseren Versuchen geht hervor, daß Vitamin A nicht nur — wie das bekannt ist — dem Thyroxin entgegenwirkt, sondern daß es ebenso ein Antagonist für das thyreotrope Hormon des H. V. L. ist. Völliger Vitamin A-Mangel führt zu einer vermehrten Produktion von thyreotropem Hormon; gesteigerte Vitamin A-Zufuhr schränkt die Produktion ein. Der Angriffspunkt der antithyreoidealen Wirkung des Vitamin A liegt demnach nicht nur in der Peripherie als einer gleichsam das Thyroxin entgiftenden Substanz, sondern auch im Zentrum, in dem der Schilddrüse übergeordneten thyreotropen Anteil des H. V. L. selbst, der die Größe der Schilddrüsenhormonproduktion bestimmt. Der erste unmittelbare Ausdruck hierfür ist die nach der aktiven Seite gerichtete Tendenz der

A-Avitaminoseschilddrüse, und umgekehrt das inaktive Schilddrüsenbild bei vermehrter Vitamin A-Zufuhr.

Zusammenfassung.

1. Vitamin A-Mangel gibt der Rattenschilddrüse eine Tendenz zur Aktivierung.

2. Der Gehalt der Rattenhypophyse an thyreotropem Hormon ist bei Vitamin A-Mangel deutlich vermehrt.

3. Erhöhte Vitamin A-Zufuhr stellt die Rattenschilddrüse ruhig.

4. Der Gehalt der Rattenhypophyse an thyreotropem Hormon bei A-Hypervitaminose ist vermindert.

Es wird daraus auf eine antagonistische Wirkung des Vitamin A auf die Bildung von thyreotropem Hormon im H. V. L. geschlossen.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität München.

Wirkung von Coffein und chlorogensaurem Kali-Coffein auf die Spontan-Motilität von Mäusen.

Von

E. Triendl.

Mit 11 Textabbildungen.

(Eingegangen am 1. Dezember 1938.)

Die quantitative chemische Bestimmung von Coffein ist zwar sehr exakt, aber auch äußerst zeitraubend. Die Grenze der Nachweisbarkeit liegt bei der Methode von Alfred F. Kunz[1] bei 0,05 mg Coffein.

Die pharmakologische Messung am lebenden Material nach Friedberg und Straub[2] hat ihre Grenze bei einer Konzentration von 1 : 3500 Coffein mit einem absoluten Coffeinwert von 70 γ. Diese Methode arbeitet mit einer der eigentlichen Coffeinwirkung nicht adäquaten Muskelwirkung und ist zudem eine Konzentrationsmethode. Ich habe versucht, die spezifische Wirkung der Motilitätssteigerung kleinster Coffeindosen an kleinsten Versuchstieren (Mäusen) als Unterlage einer Meßmethode zu machen.

Die Motilitätssteigerung an Versuchstieren durch Coffein ist schon oft untersucht worden. Aber immer standen die Tiere unter irgendeinem Zwang, einem Eingriff oder einer Unbequemlichkeit, Faktoren, die man besser vermeidet*. Von A. W. Forst[4] ist neuerdings eine Apparatur beschrieben worden, in der die Tiere einem Minimum von Unbequemlichkeit ausgesetzt sind. Von Forst ist die Apparatur besonders erprobt worden für die Untersuchung der Herabsetzung der Motilität durch sedative, hypnotische und narkotische Substanzen. Ich habe diese Anordnung benutzt zur Messung der Erregung nach Coffein. Ausschließlich mit dieser Apparatur sind die folgenden Versuche angestellt.

Die Versuchsanordnung besteht darin, daß das Versuchstier ohne irgendwelchen Eingriff auf einen Kippteller gesetzt wird, den es bei jeder Bewegung aus dem Gleichgewicht bringt und damit elektrische Kontakte öffnet und schließt. Die Stromstöße werden durch einen „Arbeitssammler" in geeigneter Weise auf einer berußten Trommel fortlaufend registriert. Eine Aufwärtsbewegung, ebenso eine

---

* Anmerkung: Dies dürfte auch für die Untersuchungen von H. Druckrey, E. Müller u. M. Stuhlmann[3] gelten, die zu sehr kleinen wirksamen Dosen führten. Die Versuchsanordnung scheint weniger die spontane Motilität, als vielmehr Abwehrbewegungen gegen einen nicht geringen äußeren Dauerreiz zu geben.

[1] Biochem. Z. **275**, 270 (1935). — [2] Ebenda **118**, 164 (1921). — [3] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **185**, 223 (1937). — [4] Verhandlungen der Deutschen Pharmakologischen Gesellschaft, 14. Tagung (1938).

Abwärtsbewegung des Schreibhebels zwischen den beiden Wendepunkten besteht aus 50 Stromstößen = Laufbewegungen des Tieres. Einzelheiten des Apparates werden von Dr. A. W. Forst in diesem Archiv mitgeteilt.

Methode.

Verwendet wurden männliche weiße Mäuse im Gewicht von 17—25 g. Setzt man eine Maus auf den Kippteller, so wird im Laufe von 4 Stunden im allgemeinen das in Abb. 1 veranschaulichte Bild aufgezeichnet.

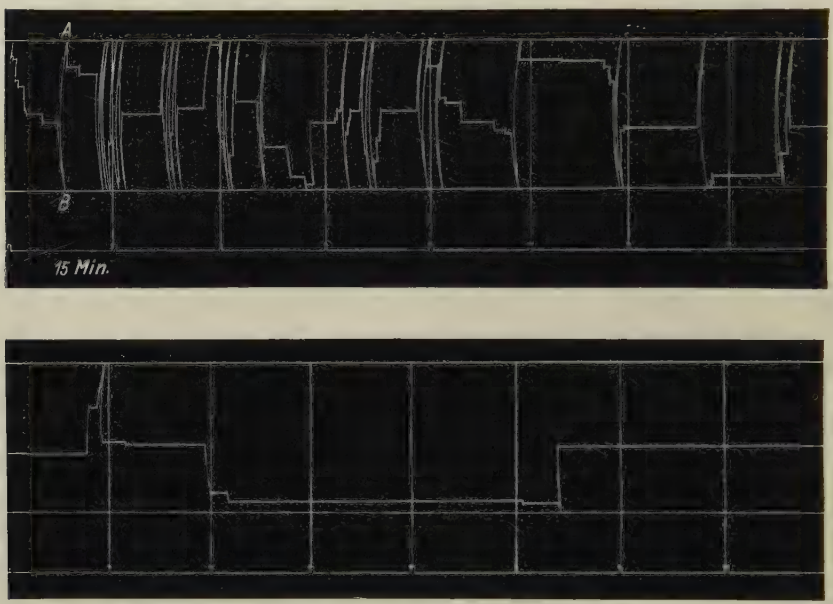


Abb. 1. Motilität einer normalen Maus bei vierstündiger Beobachtung. Die untere Kurve ist die unmittelbare Fortsetzung der oberen. Zwischen den Ordinatenwerten A und B sind in jeder Richtung 50 Kontaktpunkte. Zeit = 15 Minuten. Die Motilität nimmt in den vier Beobachtungsstunden rasch ab.

Gibt man der Maus mit der Schlundsonde in den Magen Coffein, so verändert sich die Normalmotilität in eine Erregungsmotilität, wie Abb. 2 zeigt. Die so erzielten Resultate sind aber keineswegs konstant. Die Wirkung der Abb. 2 ist von 6 γ Coffein/g Maus erreicht worden. Sie ist aber keineswegs regelmäßig reproduzierbar. Es gibt Mäuse, die auf viel weniger reagieren, und solche, die auf viel größere Dosen noch gar nicht ansprechen. Auf diese Weise ist eine unterste Grenzdosis von Coffein nicht zu erreichen. Von anderer Seite (z. B. O. Riesser[5]) wurde, um die Individualität der Versuchstiere auszuschalten, vor der Coffeingabe den

[5] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **189**, 151 (1938).

Tieren Narkotica, wie Alkohol oder Schlafmittel, gegeben und die Durchbrechung des narkotischen Zustandes durch Coffein als ein kritischer Punkt der Feststellung angesehen.

Ich fand es besser, die Versuchstiere in etwas natürlicherer Weise vorzubereiten, indem ich sie zwangsweise ermüdete. Die Tiere mußten vor dem Versuch in einer durch Motor getriebenen Lauftrommel laufen. Die Trommel lief mit einer Geschwindigkeit, die die Tiere zu einem Laufweg von etwa 200 m Stunde zwang. Diese Ermüdung durch die Laufarbeit wurde in zwei Stufen dosiert, nämlich 1 Stunde und 3 Stunden. Tiere,

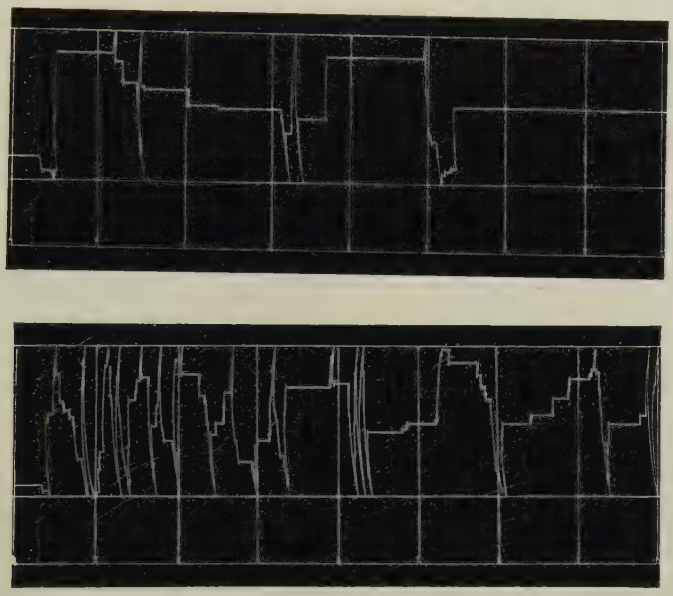


Abb. 2. Obere Kurve: Normalzustand. Untere Kurve: Coffeinwirkung. Zwischen oberer und unterer Kurve eine Viertelstunde Pause, während der das Coffein mit Schlundsonde in den Magen gegeben wurde. Sonst Bezeichnungen wie bei Abb. 1.

die nicht ordentlich liefen, sich schleifen ließen, wurden ausgeschaltet. Nach Absolvierung des Laufpensums wurden die Tiere gewogen und sofort auf den Kippteller gesetzt und bekamen Futter und Wasser. Eine halbe Stunde später setzte die Registrierung ein und die Motilität wurde für 2 Stunden aufgezeichnet. (Ebenso wurde übrigens auch mit den normalen, nicht ermüdeten Tieren verfahren). Diese 2 Stunden liefern den Ausgangswert. Darauf wurde die zu prüfende Coffeinlösung den Tieren mit der Schlundsonde beigebracht, und zwar mit einer Präzisionsspritze, die auf 5 mm^3 genau ist und Zwischenwerte noch leicht schätzen läßt. Dem Volumen nach waren die beigebrachten Mengen 0,01 cm^3/g Maus in sämtlichen Versuchen. Die ersten 10 Minuten unmittelbar nach der Ein-

gabe mit der Schlundsonde wurden nicht registriert. Die darauffolgenden 2 Stunden wurden registriert und enthielten die Coffeinwirkung. Die Versuchstiere wurden während des Versuchs von Außenstörungen freigehalten in einem Zimmer, das nicht mehr betreten wurde. Der geräuschvolle Arbeitssammler war in einem Nebenzimmer aufgestellt.

Durch diese Versuchsanordnung wurden im großen und ganzen übereinstimmende Coffeinwirkungen erzielt. Immerhin steckt aber auch darin noch ein Rest von Mäuseindividualität, der nicht anders als statistisch, also durch eine größere Anzahl von Versuchsreihen für jede Dosis bewältigt werden kann. Ich habe stets für jede Dosis mindestens 20 Einzelversuche angestellt.

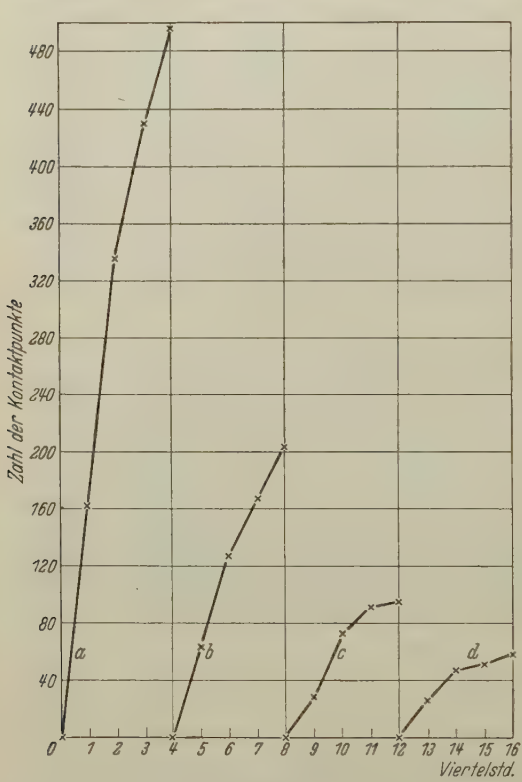


Abb. 3.

Für die Auswertung der Kurven ist folgendes zu bedenken: Weder im Vorversuch noch im Hauptversuch herrschen konstante Verhältnisse. Die Motilität der Versuchstiere nimmt im allgemeinen von Stunde zu Stunde ab. Ferner hat die Coffeinwirkung ein Maximum kurz nach der Injektion, das ebenfalls allmählich, wohl gleichmäßig mit der Ausscheidung des Coffeins verschwindet. Da es sich in diesen Versuchen um die Feststellung der Motilitätsmaxima dreht, hat es keinen Sinn, die Gesamtmotilität der 2 Stunden-Perioden zu vergleichen, vielmehr wurden diese in $^1/_4$ Stunden-Perioden unterteilt, wodurch man sicher das Maximum der Coffeinwirkung erfassen konnte. Die $^1/_4$ Stundenwerte der Motilität wurden in der ganzen Reihe der jeweils 20 Versuche festgestellt und die Mittelwerte genommen. Die Abb. 3 zeigt den Verlauf eines derartigen Versuchs in folgender Weise: Ordinate: Zahl der Laufbewegungen, Abszisse: Zeit in $^1/_4$ Stunden. Die ausgezählten $^1/_4$ Stundenwerte wurden für eine Stunde addiert, wodurch die Kurve *a* entsteht (1. Viertelstunde: 164 Bewegungen, 2. Viertelstunde: 169, 3. Viertelstunde: 95 Bewegungen, 4. Viertelstunde: 69 Bewegungen). In gleicher Weise sind die drei folgenden Kurven *b*, *c* und *d* zustande gekommen.

Das Gesamtresultat ist demnach ein allmähliches Absinken der Motilität während der vier Beobachtungsstunden*.

Bei den Coffeinversuchen wurde das Coffein zu Beginn der 3. Stunde gegeben. Die Coffeinwirkung äußert sich dann in einer mehr oder weniger ausgesprochenen Veränderung der Gipfelpunkte der beiden folgenden Beobachtungsstunden.

Versuche mit Coffein.

Auf diesem Wege wurde versucht, die unterste Grenze der Coffeinnachweisbarkeit zu ermitteln.

An nichtermüdeten Mäusen ergab sich, unter Berücksichtigung der oben mitgeteilten Versuchsbedingungen ein sicherer positiver Durchschnittswert von 6 γ/g Maus. (Das kristallisierte, wasserhaltige Coffein des Handels wurde stets durch zweistündiges Trocknen bei 80° entwässert. Die Zahlen sind also absolute Coffeinwerte.) Auch bei 3 γ/g Maus war noch ein positiver Effekt zu sehen, aber nur sehr geringen Grades (Abb. 4). Das Resultat wird aber ganz anders, wenn die durch Ermüdung vorbehandelten Mäuse verwendet werden (Abb. 5). Ist die Ermüdung nur einstündig, so ist der Coffeineffekt mit 3 γ/g Maus schon sehr deutlich. Der Vergleich der Gipfelpunkte von *b* und *c* gibt eine Steigerung auf das 1,9fache in diesem Versuch, bei *d* aber schon eine Abnahme auf die Hälfte; *d* ist der natürliche Wert für diese Periode. Die Coffeinwirkung ist also schon bei *d* abgeklungen.

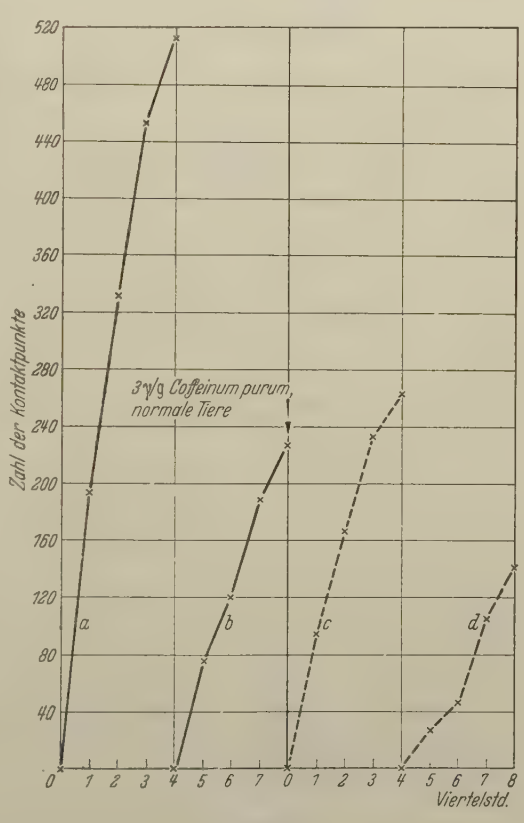


Abb. 4.

* Die Einführung der Schlundsonde und die Beibringung des Stoffes in den Magen des Versuchstieres an sich veranlaßt keine Veränderung der Motilität. Es wurden untersucht Injektionen von Wasser, Soda, Phosphorsäure usw.

Noch stärker wird der Effekt bei dreistündiger Ermüdung (Abb. 6). Die Motilitätssteigerung zwischen *b* und *c* beträgt in dieser Versuchsreihe das 4,2fache. Der Effekt geht auch noch in die 4. Stunde mit einer Steigerung auf das 1,7fache gegen den Wert von *b*.

Geht man mit den Coffeindosen auf 1,5 γ/g Maus herunter, so tritt selbst bei den stark ermüdeten Tieren keine Coffeinwirkung mehr auf.

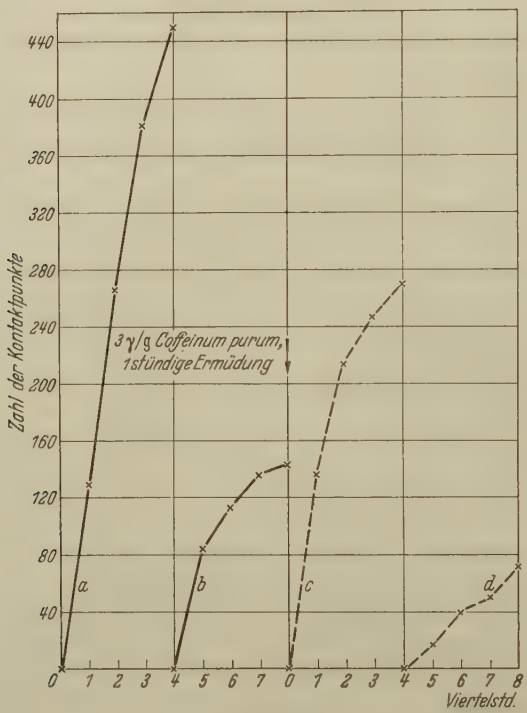


Abb. 5.

Es liegt also die Grenze der Nachweisbarkeit des Coffeins bei etwa 2 γ/g Maus.

Das Coffein muß nach der 2. Versuchsstunde gegeben werden, in der das Tier sich beruhigt hat. Gibt man die Dosis zu früh, also unmittelbar nach der 1. Versuchsstunde, so ist die wirksame Dosis von 3 γ/g auch bei dreistündiger Ermüdung ohne Erfolg (Abb. 7).

Ergebnis dieser Versuche ist also die Feststellung der untersten Grenze der Coffeinnachweisbarkeit bei 2 γ/g Maus. Daneben hat sich aber das für die Pharmakologie des Coffeins bemerkenswerte Resultat ergeben, daß das ermüdete Versuchstier gegen Coffein empfindlicher ist, als das nicht ermüdete, daß also offenbar Ermüdungszustände schon von kleinen

Dosen Coffein beeinflußt werden können, die am normalen Tier noch unwirksam sind. Möglicherweise läßt sich diese Beobachtung noch weiter verallgemeinern.

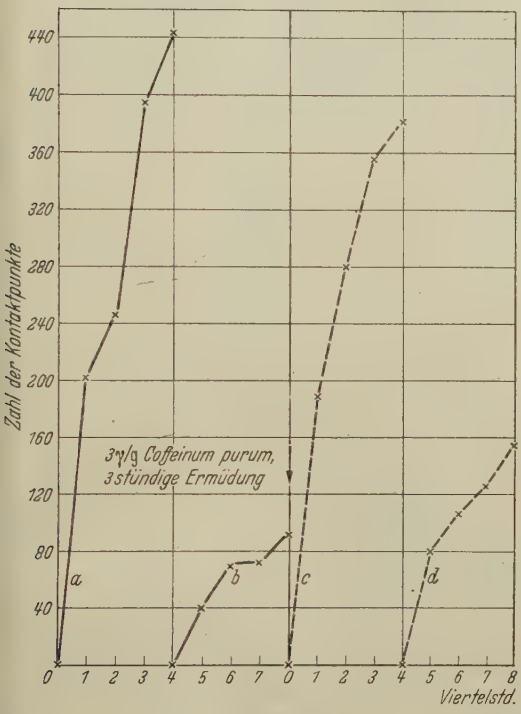


Abb. 6.

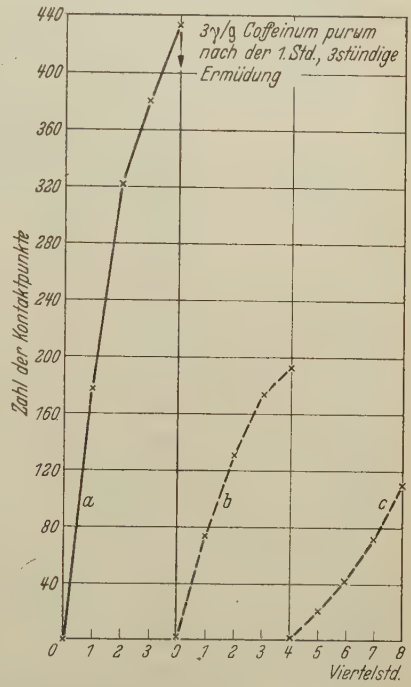


Abb. 7.

Versuche mit chlorogensaurem Kali-Coffein.

Das chlorogensaure Kali-Coffein ist die Form, in der das Coffein in der natürlichen Kaffeebohne enthalten ist. Auch die geröstete Bohne enthält noch fast alles Coffein in dieser Form. Chemisch ist das chlorogensaure Kali-Coffein eine kristallisierte Substanz und das natürliche Analogon der synthetisch hergestellten Doppelverbindungen vom Typus Coffeinum-Natrium-Salicylicum usw. Es unterscheidet sich vom reinen Coffein hauptsächlich durch seine gute Wasserlöslichkeit. Wie von H. Gebhardt[6] kürzlich mitgeteilt wurde, hat das chlorogensaure Kali-Coffein gegenüber dem reinen Coffein einen gesteigerten diuretischen Effekt. Da durch diese sehr rasch auftretende Diurese ebenso rasch Coffein ausgeschieden wird, wird dadurch dem Körper Coffein entzogen, was sich in einer Verminderung der tödlichen Dosis oder einer Art Entgiftung äußert. Ich habe deshalb untersucht, ob etwa ein gleichsinniger Effekt an der Motilität der Mäuse sich nachweisen läßt.

[6] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 696 (1939).

Chlorogensaures Kali-Coffein ist zwar als kristallisierte Substanz leicht herzustellen. Da es aber in wässeriger Lösung völlig hydrolysiert ist, habe ich in meinen Versuchen die bequemer herzustellende Mischlösung der drei Bestandteile verwendet [1 g Coffeinum purum, wasserfrei + 1,824 g Chlorogensäure (Merck) + 0,288 g KOH]. Die wässerige Lösung der Chlorogensäure ist nicht beständig. Ich habe deshalb die Lösung von chlorogensaurem Kali-Coffein für jeden Versuch frisch hergestellt.

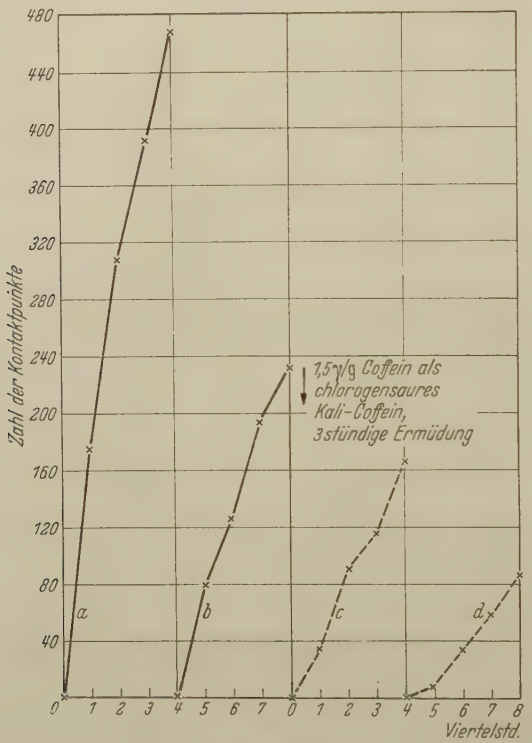


Abb. 8.

Wie oben angegeben, ist 1,5 γ/g Maus reines Coffein auch für die durch dreistündige Ermüdung hoch sensibilisierten Tiere unwirksam. Das gleiche gilt, wenn das Coffein in gleicher Dosis als chlorogensaures Kali-Coffein gegeben wird. Eine Wirkungssteigerung durch Chlorogensäure findet also nicht statt (Abb. 8).

3 γ/g Coffeinum purum ist am stark ermüdeten Tier (vgl. Abb. 6) stark wirksam, und die Wirkung geht noch in die zweite Versuchsstunde hinüber. Wird dieselbe Dosis in der Form des chlorogensauren Kali-Coffeins gegeben (Abb. 9), so tritt nur eine minimale Wirkung auf.

Geht man mit den Dosen in die Höhe, so macht 4,5 γ/g Coffein in Form von chlorogensaurem Kali-Coffein schon eine merkliche Steigerung

der Motilität (Abb. 10). Eine bedeutende Steigerung wird aber erst erreicht von 6 γ/g Coffein als chlorogensaures Kali-Coffein (Abb. 11).

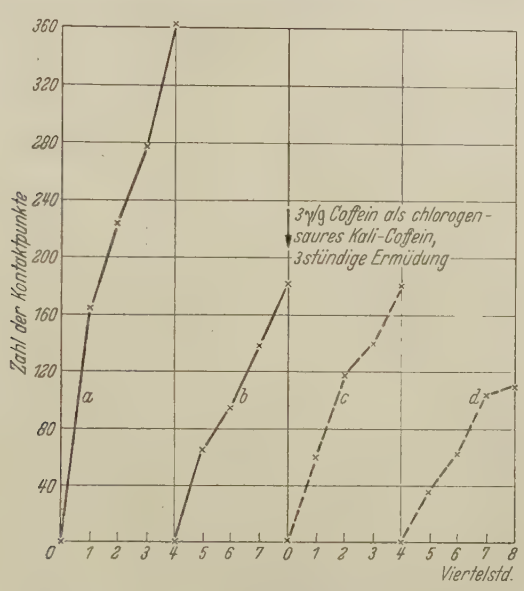


Abb. 9.

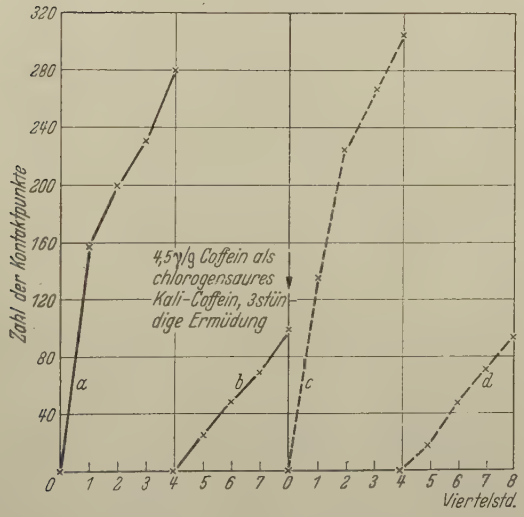


Abb. 10.

Dabei wurde noch folgende weitere Beobachtung gemacht: Die Wirkung von 3 γ/g Coffeinum purum an stark ermüdeten Tieren hält noch in der zweiten Stunde der zweiten Versuchsperiode an. Bei dem Grenzwert von 4,5 γ/g Coffein als chlorogensaures Kali-Coffein ist in dieser Periode kein

Coffeineffekt mehr zu sehen. Erst bei der großen Dosis von 6 γ g Coffein als Chlorogenat bleibt die Coffeinwirkung auch in der zweiten Stunde bestehen, etwa entsprechend der Dosis von 3 γ/g Coffeinum purum.

Das Ergebnis der Versuche mit dem Chlorogenat ist also ganz konform den Beobachtungen von H. Gebhardt, d. h. das Chlorogenat bleibt seinem Coffeinwert entsprechend hinter der erwarteten Erregungswirkung zurück.

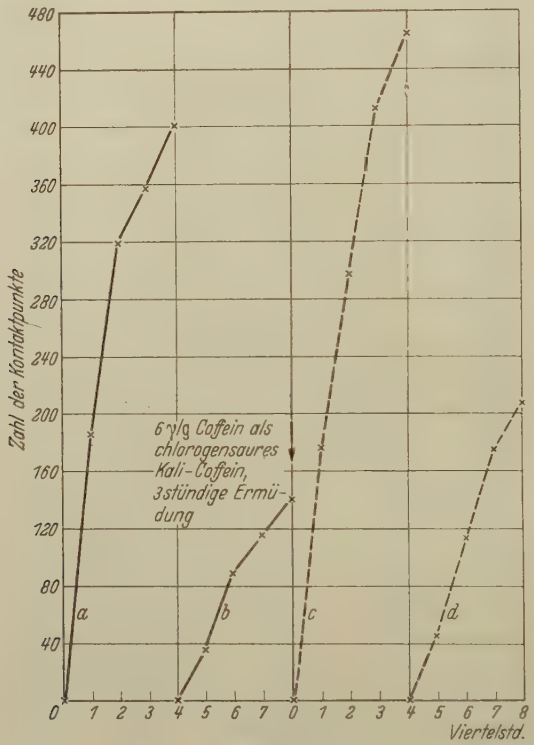


Abb. 11.

Die Wirkung selbst ist von kürzerer Dauer. Sie erscheint nach Art einer Stoßwirkung.

Nachdem die gleiche Beobachtung über die Abschwächung und Abkürzung der Coffeinwirkung durch die Bindung an Chlorogensäure von H. Gebhardt an Ratten, Kaninchen und am Menschen an der diuretischen Wirkung* erwiesen wurde, dieselbe Abschwächung sich nunmehr in der zentralen Erregungswirkung der Substanz wieder zeigt, kann man daran denken, daß auch beim Genuß des Kaffees als menschliches Genußmittel die Chlorogensäure im obigen Sinne eine Rolle spielen kann.

---

* Auch bei meinen Tierversuchen beobachtete ich unter wirksamen Chlorogenatdosen eine gesteigerte Diurese.

Zusammenfassung.

1. Es wird eine Methode beschrieben, die an der völlig unverletzten Maus die unterste wirksame Dosis von Coffein ermitteln und höhere Dosen messen läßt.

2. Der unterste Grenzwert beträgt 2γ Coffein pro g Maus.

3. Durch künstliche Ermüdung tritt eine Sensibilisierung für Coffein ein.

4. Coffein in der natürlichen Bindung als chlorogensaures Kali-Coffein wirkt schwächer, als dem Coffeinwert nach zu erwarten wäre.

5. Die Wirkung des Chlorogenats verschwindet rascher, als die der gleichen Dosis von reinem Coffein.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität München.

Darmwirkungen intravenös einverleibter salinischer Abführmittel.

Von

Zengo Kanda.

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 1. Dezember 1938.)

Die alte Anschauung, daß die salinischen Abführmittel durch Wasseranziehung im Darm abführend wirken, wurde schon von Buchheim[1] bestritten. Er betonte die Unabhängigkeit der Glaubersalzwirkung von der Salzkonzentration, wies nach, daß Glaubersalz aus wässeriger Lösung im Darm unresorbierbar ist und bloß die Eindickung des Darminhaltes hindert, dies besonders im Dickdarm, so daß zwangsläufig dünner Stuhl entleert werden muß. Matthew Hay[2] unterstützte die Anschauung durch kritische Untersuchungen.

Diese beruhigte Lage wurde von Mac Callum[3] unter Jaques Loeb in Unordnung gebracht, indem er das Problem von der physikalischen Seite auf eine spezifisch chemische verschob. Nach ihm wirken Natriumsulfat, Magnesiumsulfat, Natriumfluorid, Natriumtartrat, Natriumphosphat auch abführend, wenn sie unter die Haut oder in die Blutbahn gebracht werden. Die Wirkung soll mittelbar sein, indem sie die Sekretion der Darmdrüsen vergrößern und die Peristaltik verstärken. Die Wirkungen sollen durch Calciumsalz gehemmt werden.

Diese an sich sehr gekünstelte Vorstellung wurde bald darauf von Frankl[4] nachgeprüft. Er beobachtete zwar eine ganz unbedeutende Verstärkung der Peristaltik, sie ging rasch vorüber, nach intravenöser Injektion trat keine Abführwirkung auf. Den Antagonismus Natriumsulfat-Chlorcalcium konnte er phänomenologisch bestätigen, aber als nichtspezifisch abtun, da der Antagonismus an äquivalente Mengen beider Komponenten gebunden ist, d. h. Sulfat ausgefällt wird. Mac Callum sowohl wie Frankl arbeiteten am Darm des Kaninchens im Wasserbad und konnten die Vorgänge nur subjektive beobachten. Durch die Arbeiten von W. Straub und Mitarbeiter sind nun die Methoden des Studiums der Darmmotilität so verbessert worden, daß eine zuverlässige Registrierung der peristaltischen Bewegung ermöglicht ist. Mit diesen neuen Methoden habe ich die alte Frage, ob die salinischen Abführmittel eine spezifische Wirkung auf die Darmmotilität haben, wieder aufgenommen.

[1] Arch. f. physiol. Heilkunde **13** (1854). — [2] J. of Anat. and Physiol. **16**, 17 (1883). — [3] Amer. J. Physiol. **10**, 101 (1903) und (1904). — [4] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **57**, 386 (1907).

Ich ging in der Weise vor, daß am Meerschweinchen ein Darmstück des Dünndarms oder Dickdarms durch einen bestimmten Füllungsgrad in regelmäßige peristaltische Tätigkeit versetzt wurde, während dieser wurde dann die zu prüfende Salzlösung intravenös dem Tier beigebracht. So ist am sichersten zu erkennen, ob die Salze eine Wirkung haben, die sich an einer Verstärkung der bestehenden Peristaltik äußert. Die Konzentration der Salze wurde so gewählt, daß eine Isotonie mit dem Blutserum eingehalten wurde, und zwar:

$MgSO_4 \cdot 7\,H_2O$ . . .	M/6,5	3,8 %
$MgCl_2 \cdot 6\,H_2O$ . . .	$^2/_3 \cdot$ M/6,5	2,06
Na_2SO_4	$^2/_3 \cdot$ M/6,5	1,45
K_2SO_4	$^2/_3 \cdot$ M/6,5	1,79
$Na_2S_2O_3 \cdot 5\,H_2O$ . .	$^2/_3 \cdot$ M/6,5	2,54

I. Wirkung intravenöser Injektionen.

Natriumsulfat ist in keiner Dosis wirksam, auch verändert es die Peristaltik des arbeitenden Darms in keiner Weise, nicht des Dünndarms, auch nicht des Dickdarms.

Ebensowenig hatten die anderen untersuchten Substanzen eine Förderwirkung auf den Darm.

Dies gilt besonders auch für das Thiosulfat, bei dem vielleicht eine spezifische Wirkung, wenn sie aufgetreten wäre, durch Abspaltung des zweiten Schwefelatoms hätte erklärt werden können.

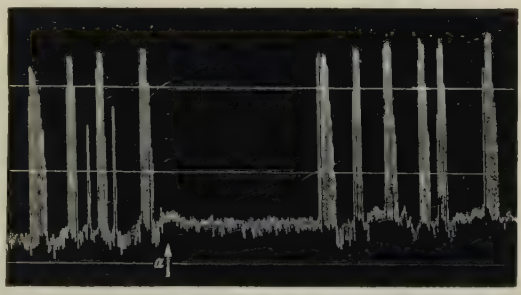


Abb. 1. Dünndarm des Meerschweinchens. Bei *a* intravenöse Injektion von 0,015 g/kg Magnesiumsulfat.

Bei Magnesium und Kalium waren eindeutige spezifische Wirkungen vorhanden, aber sie waren reine Lähmung der bestehenden Peristaltik. So macht (Abb. 1) intravenöse Injektion von 0,015 g/kg des Meerschweinchendünndarms eine sofortige kurzdauernde totale Hemmung der Peristaltik, die von selbst verschwindet: je größer die Dosis der einmaligen Injektion, desto länger die Dauer der Stillstellung. Die Hemmung tritt niemals unter allmählicher Abschwächung der Höhen auf, sie ist eine totale oder keine. Die Wirkung am Darm ist bei diesen Dosen die einzige, die Herzwirkung kommt erst bei viel größeren Mengen, erst ab 0,28 g/kg ist das Herz angegriffen, kann aber durch Calcium prompt wieder gerettet werden.

Im Lähmungszustande durch Magnesium ist der Darm herabgesetzt empfindlich gegen seinen spezifischen natürlichen Reiz der Wanddehnung durch Füllungszuwachs (Abb. 2).

Nach den Gesetzen der physiologischen Darmperistaltik ist eine Vergrößerung einer einmal bestehenden Peristaltik gar nicht zu erwarten

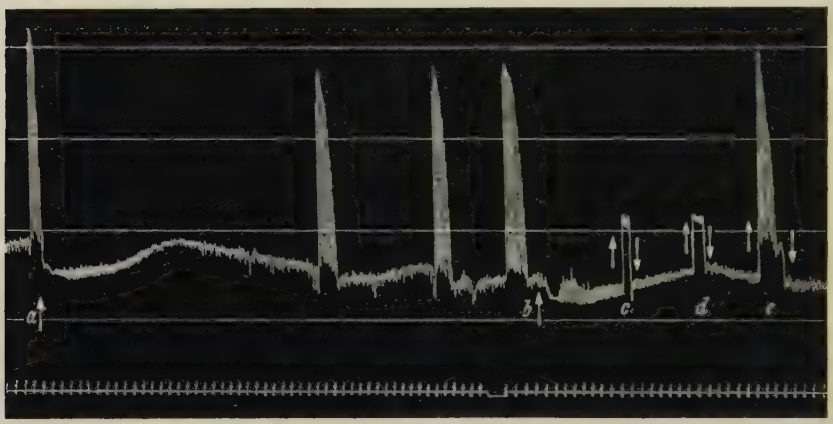


Abb. 2. Bei *a* und *b* intravenöse Injektion von 0,15 g/kg Magnesiumsulfat. Bei *c*, *d* und *e* wurde der Darm durch Erhöhung des Innendruckes gereizt.

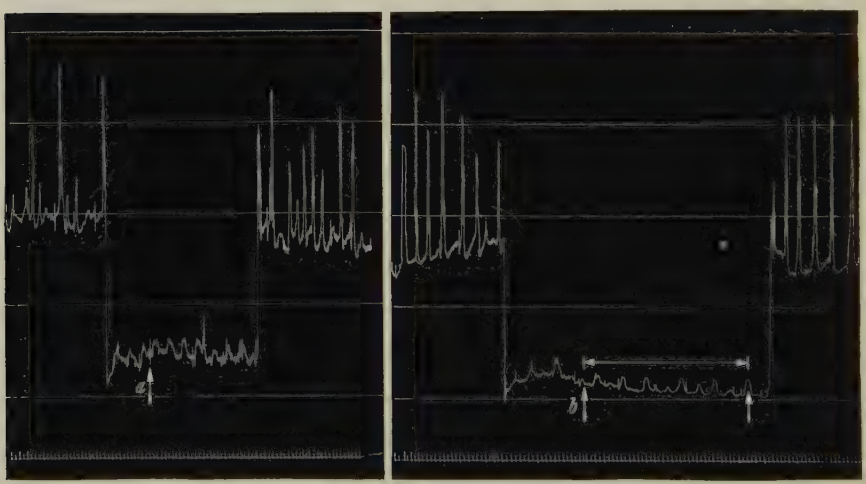


Abb. 3. Am entlasteten Dünndarm. Bei *a* intravenöse Injektion von 58,5 mg/kg Na_2SO_4, bei *b* Dauerinfusion von 142,0 mg/kg Na_2SO_4 in 19 Minuten.

und aus den bisherigen Versuchen mit dem Glaubersalz der Beweis der Unwirksamkeit im spezifischen Sinne noch nicht voll erbracht. Es wurde deshalb der Darm in natürlicher Weise zum Stillstand gebracht durch Senkung des Innendruckes bis zum Verschwinden der Peristaltik und dann

in diesen Zustand hinein die intravenöse Injektion des Glaubersalzes bewerkstelligt (Abb. 3a). Resultat: Auch an diesem „sensibilisierten" Darm tritt keine Glaubersalzwirkung auf. Ebensowenig, wenn das Glaubersalz durch intravenöse Dauerinfusion beigebracht wird.

Intravenös beigebrachte salinische Abführmittel werden rasch durch die Nieren ausgeschieden; in dem Maße, als sie aus der Blutbahn verschwinden, kehrt die Erregbarkeit bei Magnesium gegen den Füllungsreiz wieder. In Abb. 2a wurde die Dauer der Lähmung durch 0,150 g/kg Magnesiumsulfat ermittelt, sie betrug 35 Minuten; darauf wurde in b dieselbe Magnesiumdosis gegeben, und während der Stillstand in verschiedenen Zeitabständen den Innendruck erhöht, nach 8 Minuten und nach 15 Minuten bestand noch Lähmung, erst nach 21 Minuten war der Füllungsreiz wirksam.

II. Intravenöse Infusionen.

Wie ersichtlich, ist durch die einmalige Injektion eine Konstanz der Salzkonzentration im strömenden Blut nicht zu erreichen. Deshalb wurden die Salze in einer besonderen Reihe intravenös infundiert, und zwar mit der von Straub beschriebenen Präzisions-Motorspritze[5].

Mit Natriumsulfat wurde unter keiner Bedingung der Geschwindigkeit, Konzentration und Zeit eine Wirkung auf die Peristaltik erzielt. Weder am tätigen noch am stillgelegten Dünn- oder Dickdarm. Die Hypothese einer spezifischen Darmreizung durch dieses Salz kann nunmehr als endgültig widerlegt gelten.

Hinsichtlich der Lähmungswirkung des Magnesiumsulfats in Abhängigkeit von der Magnesium-Blutkonzentration wurden folgende Werte ermittelt:

Tabelle 1.

Nr.	Dauer der Infusion	Geschwindigkeit in mg/kg/Min.	Dosis in mg/kg	Effekt
1	9 Min.	2,8	25,2	Schwelle der Lähmungswirkung. Wiederbeginn der Peristaltik 1 Min. nach Absetzen der Infusion.
2	16	3,15	50,4	Ebenso.
3	30	4,66	140,0	Völlige Lähmung der Peristaltik. Tonussenkung erste spontane Peristaltik 11 Min. nach Absetzen.
4	40	7,55	302	Wie oben Erholung nach 15 Min.
5	51	7,9	403	Völlige Lähmung, Tod durch Herzlähmung.

Bekanntlich besteht für die Stamm-Muskulatur und das Herz ein Antagonismus Magnesium-Calcium. Er wurde auch am Darm studiert.

[5] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **185**, 456 (1937).

Hier mußte natürlich Magnesiumchlorid verwendet werden, da das Sulfat mit Calciumsalz ausgefallen wäre. Bei einer Infusion von 9,5 mg/kg/Min. wurde während 35 Minuten eine volle Magnesiumlähmung des Darmes erzielt, die Peristaltik kam spontan 10 Minuten nach dem Absetzen der Infusion wieder. Sie trat aber sofort wieder ein, wenn unmittelbar nach dem

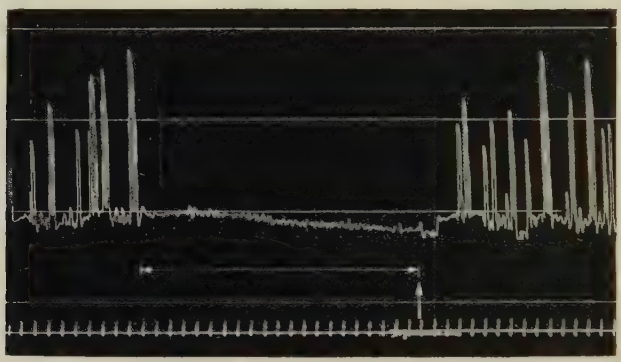


Abb. 4. ↔ Dauerinfusion von 9,5 mg/kg/Min. Magnesiumchlorid. ▲ intravenöse Injektion von 10 mg Calciumchlorid.

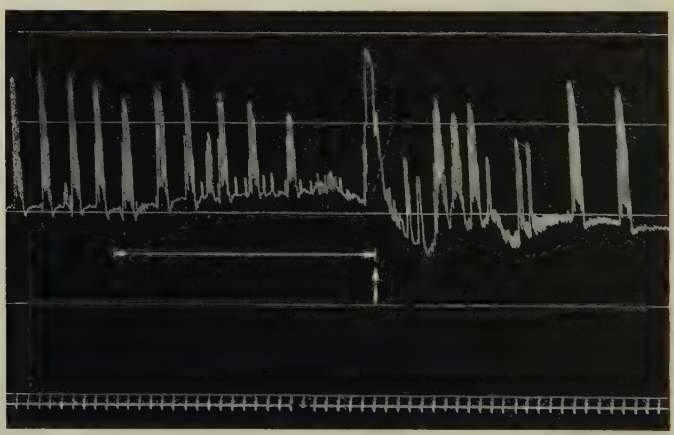


Abb. 5. ↔ Dauerinfusion von 9,7 mg/kg/Min. K_2SO_4. ▲ intravenöse Injektion von 25 mg Calciumchlorid.

Absetzen eine Injektion von 10 mg Calciumchlorid gemacht wurde (Abb. 4) Der Antagonismus der beiden Ionen besteht also auch am Darm.

Kaliumsulfat. Die Infusion von 5,75 mg/kg/Min. ist am Darm während 29 Minuten unwirksam. Die höhere Stufe von 9,7 mg/kg/Min. macht eine totale Peristaltiklähmung in kurzer Zeit (Abb. 5), die fast gleichzeitig mit einer Herzlähmung läuft. Injektion von Calciumchlorid behob den Zustand. Der Tonus sank stark. Bemerkenswert ist für Kalium,

daß die Lähmung der Peristaltik unter zunehmender Senkung der Amplituden verläuft, anders als beim Magnesium, wo sie einem „Alles- oder Nichtsgesetz" folgend momentan einsetzt. Möglicherweise beruht der Unterschied darin, daß Magnesium nervöse Elemente der Darmwand lähmt, Kalium aber muskuläre. Doch sei dies mit Vorbehalt angedeutet, die Erscheinung müßte noch systematisch untersucht werden.

Zusammenfassung.

1. Am Meerschweinchendarm in situ nach Straub wird die Wirkung intravenös einverleibter salinischer Abführmittel untersucht.

2. Bei keinem erfolgt eine direkte Steigerung der Peristaltik, weder am tätigen noch am ruhenden Dick- oder Dünndarm. Die Mittel haben demnach keine spezifische Reizwirkung.

3. Spezifische Lähmungswirkungen bestehen beim Magnesium und Kalium, sie werden von Calcium antagonistisch beeinflußt.

4. Thiosulfat ist ebenso wirkungslos wie Sulfat.

Aus der Inneren Abteilung des Gertraudenkrankenhauses zu Berlin-Wilmersdorf.
(Leiter: Prof. Dr. S. Lauter.)

Über Veränderungen des Fettumsatzes im entnervten Fettgewebe*.

Von

F. X. Hausberger.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 10. Dezember 1938.)

Das Nervensystem reguliert vermittels afferenter und efferenter Fasern zusammen mit anderen Faktoren den Gehalt der Fettdepots[1, 5]. Die Fettablagerungen und das Fettgewebswachstum wird durch den Sympathicus gehemmt[1, 5] und durch den Parasympathicus gefördert[5]. Die sympathischen Fibrillen treten durch die vorderen Wurzeln aus und gehen über die Grenzstrangganglien mit den peripheren Nerven zu den Fettlagern, die sie regionär versorgen. Der Spinalparasympathicus verläßt das Rückenmark durch die hinteren Wurzeln. Die afferenten sensiblen Bahnen stehen durch Reflexbögen mit den efferenten so in Verbindung, daß durch starke Veränderungen (z. B. entzündliche Entspeicherung) im Fettgewebe auch die symmetrischen Fettlager gleichsinnig beeinflußt werden können [1 (1937)]. Die Ausschaltung peripherer gemischter Nerven führt zu einem Überwiegen der Einflüsse, die zu einer Fettzunahme Anlaß geben.

Bestimmte symmetrische Fettlager eines Tieres verhalten sich bezüglich ihres Gehaltes an Fett, Wasser, Trockensubstanz, Glykogen, Fermenten usw. fast gleich[2]. Durch die regionäre Entnervung kann an einem Tier normales und denerviertes Fettgewebe nebeneinander unabhängig von individuellen Schwankungen untersucht werden.

In den Fettlagern findet normalerweise ein ständiges Ab- und Zufließen, ein ständiger Auf- und Abbau statt. Nahrungsfette, gekennzeichnet durch eine bestimmte Jodzahl, durch Anlagerung von Deuterium oder durch Anfärbung mit nur fettlöslichen Farbstoffen, können bald nach der

* Ausgeführt mit Unterstützung der deutschen Forschungsgemeinschaft.
[1] Hausberger: Z. mikrosk.-anat. Forsch. **36**, 231 (1934); Klin. Wschr. **1935**, S. 77; Dtsch. Arch. klin. Med. **180**, 274 (1937); Verh. Ges. Verdgskrkh. **1938**, XIV. Tagung. — [2] Hausberger u. Guyot: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **187**, 655 (1937). — [3] Cedrangolo: Arch. Sci. Biol. (It.) **21**, 570 (1935). — [4] Adler-Mönnich u. Tiberi: Wien. Arch. inn. Med. **30**, 259 (1937). — [5] Ken Kuré, Toshio u. Shigeo Okniaka: Klin. Wschr. **16**, 1789 (1937).

Verfütterung in den Fettlagern wiedergefunden werden[6]. Da der Bestand der Depots bei erwachsenen Tieren innerhalb längerer Zeit gleich bleibt, muß angenommen werden, daß die Regulierung dieser Konstanz durch einen annähernd gleich großen Ab- und Zustrom erfolgt. Bei periodisch fressenden Tieren müssen während jener Zeit, in der keine Nahrungsaufnahme erfolgt, notwendigerweise die Reserven angegriffen werden. Die gesamten disponiblen Glykogenvorräte sind z. B. bei der Ratte nach längstens 3stündigem Hungern aufgebraucht, und es werden dann die Fettreserven zur Erhaltung des Lebens mobilisiert. Sehr häufig übersteigt andererseits die Größe der Nahrungsaufnahme und die Resorption den augenblicklichen Bedarf, und ein Teil wenigstens wird in den Fettlagern gespeichert.

Das Maß der normalen Speicherung wird von einer Reihe von Faktoren, dem Angebot, den Hormonen und dem Nervensystem geregelt. Nach Ausschaltung des Sympathicus bzw. der Durchschneidung gemischter Nerven kommt zunächst ein starker Wassereinstrom zustande, der so groß sein kann, daß er eine gleichzeitige geringe Fettzunahme verdeckt und daß das Gewebe relativ fettärmer wird[2]. Anschließend erfolgt eine besonders starke Glykogenvermehrung. Wasser und Glykogen werden schließlich weniger und von einer bleibenden Fettablagerung abgelöst. Gleichzeitig mit dem Ansteigen des Glykogens kann eine starke Zunahme des diastatischen Gewebsfermentes, unabhängig vom Blutfermentgehalt, nachgewiesen werden[7]. Es ist heute durch zahlreiche Untersuchungen sichergestellt, daß im Fettgewebe eine Umwandlung von Kohlehydraten zu Fett stattfinden kann[8]. Die gleichzeitige Glykogen- und Diastasezunahme ist der Ausdruck einer derartigen gesteigerten Synthese[9]. Die Aufeinanderfolge von Wasser- und Glykogenzunahme und ihr Verschwinden bei der Fermentvermehrung findet sich beachtenswerterweise auch bei der Insulinmast in den Depots[10]. Es liegt daher nahe, anzunehmen, daß das Insulin, dessen periphere Wirkung auf das Fettgewebe durch die Untersuchungen von Sano Susumu zunächst wahrscheinlich gemacht ist[11], in ähnlicher Weise wie der Fortfall des adrenergischen Wirkstoffes zu einer Fettablagerung führt und die intermediären Abläufe beide Male gleich sind. Die Fettspeicherung erfolgt in der ersten Zeit nach der Neurotomie so schnell, daß sie mit histologischen Methoden, durch Wägung oder präparative Analyse erfaßbar ist. Nach mehreren Wochen bis Monaten dagegen ist eine Vermehrung mit diesen Methoden gewöhnlich nicht mehr

---

[6] Schoenheimer u. Rittenberg: J. biol. Chem. (Am.) **111**, 175 (1935); **113**, 505; **114**, 381 (1936); **117**, 485 (1937); dort weitere Literatur. — [7] Hausberger: Z. exper. Med. **102**, 169 (1937). — [8] Quagliariello u. Scoz: Boll. Soc. ital. Biol. sper. **5**, 1117 (1930); Henle u. Szpingier: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **180**, 672 (1936); Felix u. Eger: Dtsch. Arch. klin. Med. **182**, 623 (1938); dort weitere Literatur. — [9] Scoz: Arch. Sci. Biol. (It.) **18**, 74 (1933). — [10] Scoz, Boer u. Boeri: Arch. Sci. Biol. (It.) **22**, 142 (1936). — [11] Okagama-Igakkwai-Zasshi **47**, 89 (1935).

nachweisbar. Es war daher von besonderem Interesse festzustellen, ob in dieser zweiten Periode die Fähigkeit, Fett aufzunehmen, noch ebenso gesteigert ist wie in der ersten Zeit oder ob nun eine Änderung eingetreten ist.

Experimenteller Teil.

Methodisches. Um den Weg des verfütterten Fettes quantitativ zu verfolgen, versetzten wir einige Gramm Butter mit einer Messerspitze Sudan III, das nur fettlöslich ist, und ließen unter Rühren einige Minuten aufkochen. Hernach wurde heiß filtriert, und von dieser gesättigten Lösung erhielten mit der Schlundsonde im Ätherrausch normal ernährte Mäuse $^1/_2$ ccm, Ratten 1—2 ccm. Diesen Tieren waren unmittelbar vorher oder vor längerer Zeit die Nerven eines der beiden kleinvakuoligen symmetrischen Scapularfettkörper durchtrennt worden[1]. Etwa 10% der Mäuse bekamen für etwa 20 Stunden Durchfall. Nach einer bestimmten Zeit wurden die Tiere durch Nackenschlag getötet, entbluten lassen, die beiden Fettlager herauspräpariert, gewogen und in der früher beschriebenen Weise weiter verarbeitet[2]. Zu je einem Versuch wurden stets mehrere gleichartig behandelte Tiere verwendet und davon normale und entnervte Fettlager zusammen analysiert. Das extrahierte Fett, das stets, ebenso wie der frische Fettkörper, deutlich scharlachrot war, füllten wir mit Toluol auf ein bestimmtes Volumen auf, und zwar je nach Intensität und Menge auf 2—6 cm. Die Fette der beiden symmetrischen Depots wurden stets gleich verdünnt. Zur Bestimmung der Farbmenge diente uns das Zeisssche Stufenphotometer mit Filter S 50 und den Küvetten von $^1/_2$ ccm Schichtdicke. Aus der Eichkurve geht hervor, daß die Farbstoffkonzentration mit der Extinktion im linearen Zusammenhang steht, so daß das Beersche Gesetz gilt. Die Vermehrung oder Verminderung des Farbstoffgehaltes, die wir glauben auf die Menge des aufgenommenen gefärbten Fettes beziehen zu dürfen, entspricht somit direkt dem Verhältnis der abgelesenen Extinktion. Da bei diesen Untersuchungen nur das Verhältnis der Fett- bzw. Farbmenge, die abgelagert wurde, von Interesse ist, kann von einer Angabe der absoluten Menge abgesehen werden.

Die Fettaufnahme in den normalen Fettlagern.

Voraussetzung für die Anwendung dieser Methode zur Untersuchung der Fett-Farbstoffaufnahme war, daß in den beiden Scapulardepots die Fettaufnahme gleichmäßig erfolgt. Aus Tabelle 1 ist ersichtlich, daß tatsächlich keine größeren Unterschiede in der Extinktion (d. i. im Farbstoffgehalt) vorhanden sind. Gleichzeitig geht aus den übrigen Zahlen hervor, daß die Gewichtsdifferenzen auch der einzelnen Fettkörper sehr gering sind – wahrscheinlich vorwiegend durch Präparierfehler bedingt – und daß die Mittelwerte von nur 3 Tieren bereits praktisch vollkommen übereinstimmen.

Tabelle 1.

Scf. = Scapularfettkörper, l. = links, r. = rechts, op. = operiert; Frg. = Frischgewicht des l. oder r. Scapularfettkörpers bzw. aller r. oder l. (op.) einer Tierserie; Fe. Fettgehalt; W. Wassergehalt; Tst. Gehalt an fettfreier Trockensubstanz; Sud. E. Extinktionskoeffizient der nachweisbaren Sudanmenge im l. bzw. r. Scf.; U. Ab- oder Zunahme des entnervten Scf., Fe. usw. gegenüber der normalen Seite.

Maus	Frg. Scf. r.	Frg. Scf. l.		Frg.	Fe.	W.	Tst.	Sud.
a	28 mg	25 mg	Scf. r.	99 mg	43 mg	39 mg	17 mg	E. = 0,293
					43 %	40 %	17 %	
b	35 „	37 „	Scf. l.	98 „	41 mg	41 mg	16 mg	E. = 0,30
					42 %	42 %	16 %	
c	36 „	36 „	U.	− 1 %	− 5 %	+ 5 %	− 6 %	+ 2 %

Die Fettaufnahme in der ersten Periode nach der Nervendurchschneidung.

Unmittelbar nach der Neurotomie erfolgt zunächst die Zunahme des Gewebswassers, dann eine solche des Glykogens und schließlich des Fettes. Die Kohlehydrat- und Diastasevermehrung sind der Ausdruck gesteigerter Fettsynthese. Nicht kann entschieden werden, in welchem Ausmaß die Fettablagerung auf dieser Synthese beruht und wieweit sie durch im Blute kreisende Lipoide bedingt ist. Offenbar findet nun eine ergiebige Speicherung präformierten Nahrungsfettes nach der Entnervung statt. Denn bereits nach 24 Stunden ist Fett, das unmittelbar nach der Operation gegeben wurde, in den denervierten Fettlagern bedeutend vermehrt abgelagert worden. Nur so kann nämlich der im ganzen Fettkörper um 162 % vermehrte Farbstoff erklärt werden (Tabelle 2).

Tabelle 2*.

Maus	Frg. Scf. r.	Frg. Scf. l. = op.		Frg.	Fe.	W.	Tst.	Sud.
a	30 mg	51 mg	Scf. r.	126 mg	64 mg	47 mg	15 mg	E. = 0,21
b	37 „	46 „			51 %	37 %	12 %	
c	31 „	42 „	Scf. l. = op.	174 mg	108 mg	48 mg	18 mg	E. = 0,54
d	28 „	35 „			63 %	27 %	10 %	
			U.	+ 40 %	+ 69 %	+ 2 %	+ 20 %	+ 162 %

Im entnervten Scapularfettkörper von Ratten verlaufen die Veränderungen, wie Wassereinstrom und Fettaufnahme, etwas langsamer als bei Mäusen. (Wie aus den Untersuchungsergebnissen von Cedrangolo[3] geschlossen werden kann, noch langsamer im weißen Scapularfettkörper von Kaninchen.) Bei den Mäusen findet eine Wasservermehrung nur in den etwa ersten 6 Stunden nach dem Eingriff statt, bei den Ratten bis über

* Beschriftung in allen Tabellen wie Tabelle 1.

60 Stunden. Aus Tabelle 3, welche die Zusammensetzung von Fettlagern von Ratten zeigt, die 24 Stunden nach der Entnervung 2 ccm Sudanbutter erhalten haben und weitere 24 Stunden später getötet worden waren,

Tabelle 3.

Ratte	Frg. Scf. r.	Frg. Scf. l. = op.		Frg.	Fe.	W.	Tst.	Sud.
			Scf. r.	387 mg	290 mg	72 mg	25 mg	E. = 0,24
					75 %	19 %	6,4 %	
a	157 mg	184 mg						
b	230 „	280 „	Scf. l. = op.	464 mg	323 mg	111 mg	30 mg	E. = 0,39
					70 %	24 %	6,5 %	
			U.	+ 20 %	+ 11 %	+ 54 %	+ 20 %	+ 37 %

ist ersichtlich, daß die nervenlosen Depots 11% mehr Fett enthielten, bei einer gleichzeitigen Vermehrung des Farbstoffes um 37% gegenüber der normalen Seite. Unter den gewöhnlichen Ernährungsbedingungen ist die Fettaufnahme und -abgabe anscheinend träge. Die relativ große Farbstoffzunahme im anderen Depot muß wohl durch die vermehrte Fettspeicherung erklärt werden, da ja nur Fett der Träger des wasserunlöslichen Sudans sein kann. Bei einer weiteren Versuchsreihe von 3 Ratten, die 3 Tage nach der Entnervung und 5 Mäusen, die 2 Tage danach mit der Fettfarbstofflösung gefüttert und 24 Stunden darauf getötet wurden, waren die Resultate ganz ähnlich.

Die Farbstoffaufnahme in der zweiten Periode nach der Nervendurchschneidung.

Einige bis mehrere Wochen nach der Denervierung kann bei den meisten Tieren eine weitere Gewichtsvermehrung nicht mehr festgestellt werden. Nur bei einigen einzelnen Tieren war nach 4—8 Wochen der Fettgehalt über die nach 3 Wochen erreichte durchschnittliche Zunahme angestiegen, so daß bei diesen Tieren wohl noch eine weitere Ablagerung stattgefunden hat. In früheren Untersuchungen konnte festgestellt werden, daß nach der Entnervung auch die Fähigkeit der Depots, ihr Fett abzugeben, herabgesetzt ist (1, 1934). Wenn nun in den Lagern eine dauernde, wenn auch geringe, Aufnahme und Abgabe von speicherfähigen Substanzen vorhanden ist, muß dort, wo keine weitere Zunahme erfolgt und trotzdem der Bestand konstant bleibt, notwendigerweise auch die Aufnahme vermindert sein. Da nun längere Zeit nach dem Eingriff eine stärkere Fettvermehrung nicht mehr stattzufinden schien, war anzunehmen, daß bei der gleichzeitigen verminderten Mobilisation jetzt auch die Aufnahme gegenüber der Norm verkleinert ist. Wurde an Mäuse, die vor 50 Tagen operiert worden waren, Sudanbutterlösung verfüttert und die Tiere später getötet, so fand sich jetzt im denervierten Fettgewebe weniger Farbstoff. Diese Aufnahmeverminderung betrug im Versuch Tabelle 4

Tabelle 4.

Maus	Frg. Scf. r.	Frg. Scf. l. = op.		Frg.	Fe.	W.	Tst.	Sud.
a	54 mg	70 mg	Scf. r.	277 mg	216 mg	33 mg	28 mg	E. = 0,44
b	66 „	87 „			78 %	12 %	10 %	
c	67 „	149 „	Scf. l. = op.	424 mg	377 mg	18 mg	29 mg	E. = 0,39
d	90 „	118 „			89 %	4 %	7 %	
			U.	+ 53 %	+ 75 %	− 46 %	+ 36 %	− 11 %

für die operierten Fettlager 11 %. Berücksichtigt man jedoch, daß das Gewicht der Depots um 53 %, das des Fettes um 75 % zugenommen hatte und verrechnet die Farbstoffmenge für die Gewichtseinheit Gewebe oder Fett, so ergibt sich, daß diese Verringerung für das Gewebe 42 %, für das Fett 48 % beträgt. Die entnervten Depots sind jetzt also träger geworden, der Ab- und Zustrom ist verkleinert. In zwei weiteren Versuchsreihen, bei denen je 4 und 7 Mäuse 45 und 54 Tage nach der Denervierung und 24 Stunden nach der Fütterung untersucht wurden, fand sich ebenfalls eine Herabsetzung der Farbstoffaufnahme. Bei einem mageren Tier, dessen Fettkörpergewicht besonders stark angestiegen war, ergab sich eine Aufnahmeverminderung von wieder 11 % für das ganze nervenlose Depot (Tabelle 6). Bezogen auf die Gewichtseinheit war diese Verminderung

Tabelle 5.

Maus	Frg.	Fe.	W.	Tst.	Sud.
Scf. r.	37 mg	16 mg	17 mg	4 mg	E = 0,08
		43 %	46 %	11 %	
Scf. l. = op.	96 mg	69 mg	20 mg	7 mg	E. = 0,07
		72 %	21 %	7 %	
U.	+ 160 %	+ 330 %	+ 18 %	+ 75 %	− 11 %

für das Gewebe 67 %, für das Fett 80 %. Beachtenswert ist, daß die Gewichtszunahme der entnervten Depots innerhalb der gleichen Zeit bei den einzelnen Tieren stark wechselt.

Auch die Herabsetzung der Abgabefähigkeit läßt sich mit der Farbstoff-Fettfütterung anschaulich zur Darstellung bringen. Die Ausscheidung des Sudans beginnt sogleich mit der Verabreichung, und zwar zum größten Teil mit der Galle. Nur innerhalb der ersten 20 Stunden erfolgt auch eine Abgabe durch die Nieren. Von dem in den Darm ausgeschiedenen Farbstoff wird ein Teil sicherlich wieder rücksorbiert, ein anderer Teil wird mit dem Kot entfernt. Dieser zeigt einen durch Ätherextraktion erkennbaren Sudangehalt. Die Ausscheidung wurde von uns bis zu 3 Wochen festgestellt, länger haben wir nicht beobachtet. Nach dieser Zeit getötete Tiere enthalten

in ihren Depots noch mäßige Mengen Sudan. Diese kontinuierliche Farbstoffabnahme und die Ausscheidung beweisen ebenfalls, daß auch bei normal ernährten Tieren ein stetiger geringer Abstrom von Fett aus den Lagern stattfindet. Die Resorption des verfütterten Fettes scheint nach längstens 30 Stunden beendet zu sein. Von diesem Zeitpunkt an überwiegt dann die Abgabe aus den Depots. Sie findet in den normalen Lagern in stärkerem Maße statt als in den entnervten. Nach einer bestimmten Zeit wird der Farbstoffgehalt auf den beiden symmetrischen Seiten gleich groß sein und später dann in den denervierten Lagern größer, da ja die Mobilisierungsfähigkeit hier geringer ist. 50 Tage nach der Neurotomie ist bei Mäusen 4 Tage nach der Verfütterung um 18% mehr Farbstoff in den entnervten Depots als auf der intakten Seite (Tabelle 6) nachzuweisen.

Tabelle 6.

Maus	Frg. Scf. r.	Frg. Scf. l. = op.		Frg.	Fe.	W.	Tst.	Sud.
a	46 mg	77 mg	Scf. r.	285 mg	161 mg	87 mg	37 mg	E. = 0,44
b	54 „	54 „			57%	30%	13%	
c	55 „	70 „						
d	85 „	112 „	Scf. l. = op.	368 mg	260 mg	16 mg	32 mg	E. = 0,52
e	45 „	55 „			71%	4%	25%	
			U.		+ 29%	+ 62%	− 14%	− 13%	+ 18%

Besprechung der Ergebnisse.

Die großen Unterschiede in der Gewichtszunahme der Fettlager nach der Neurotomie bei den verschiedenen Tieren können wohl am besten so erklärt werden, daß der Füllungszustand von einer Reihe von Einflüssen abhängig ist, die als fördernde und hemmende sich das Gleichgewicht halten, so daß keine größere Bilanzveränderung eintritt. Diese Faktoren sind offenbar bei den einzelnen Tieren nicht gleich groß. Der Fortfall der lokalen nervösen Impulse bedeutet demnach für die Depots einmal eine geringere, das andere Mal eine stärkere Störung, und dementsprechend ist auch das Ausmaß der Gleichgewichtsverschiebung, d. h. die Veränderung im Füllungszustand. In dem zeitlichen Ablauf der eintretenden Veränderungen können bezüglich der Fettaufnahme und -ablagerung bei experimenteller neurogener lokaler Fettsucht von Mäusen und Ratten zwei aufeinanderfolgende Stadien festgestellt werden. In dem ersten ist die Fettaufnahme aus dem Blute gesteigert, in einem zweiten vermindert; in beiden Perioden ist die Abgabefähigkeit herabgesetzt. In Abb. 1 sind diese Verhältnisse graphisch dargestellt. Die Fettaufnahme soll durch die nach oben gerichteten Pfeile, die Abgabe durch die nach unten gerichteten dargestellt sein. Der Fettbestand bleibt dort konstant, wo beide Vorgänge annähernd gleich groß sind, wie etwa bei einem erwachsenen Tier, das sein Gewicht

nicht ändert. In entnervten bzw. sympathicotomierten Fettlagern ist in der ersten Phase die Abgabefähigkeit vermindert, die Aufnahme gesteigert, und dadurch kommt es innerhalb kurzer Zeit zu einer starken Fettzunahme. Die verschiedene Größe der Pfeile und die Steigerung der Basislinie sollen diese Änderung andeuten. In der zweiten Phase ist nun neben der Abgabefähigkeit auch das Aufnahmevermögen verkleinert, das vorher nach einer Richtung hin besonders aktive Gewebe ist träger geworden. Ist jedoch die Fähigkeit der Fettmobilisierung noch stärker herabgesetzt als die Fähigkeit der Aufnahme, so kann trotzdem eine weitere Gewichtsvermehrung bzw. Fettzunahme in den entnervten Depots stattfinden. Dieser Entwicklungsablauf scheint bei den Tieren vorzuliegen, die eine über die 4. Woche hinausgehende Fettzunahme vermuten lassen (Tabelle 5).

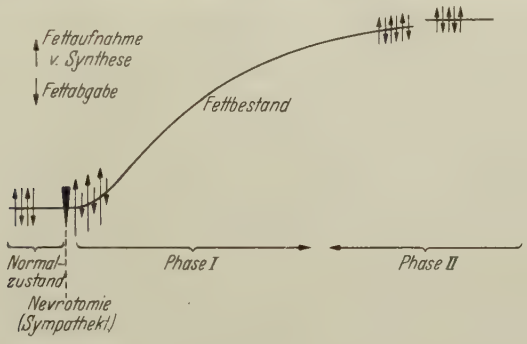


Abb. 1.

Zusammenfassung.

Durch Sondenverfütterung von Nahrungsfett, das mit Sudan III gesättigt war, konnte an Mäusen und Ratten folgendes festgestellt werden:

1. Im entnervten (sympathicuslosen) Fettgewebe ist innerhalb eines ersten Zeitabschnittes die Fettfarbstoffaufnahme gesteigert.

2. In einem zweiten Zeitabschnitt ist die Aufnahme herabgesetzt.

3. Die Abgabefähigkeit ist während beider Perioden vermindert.

Die Befunde werden besprochen.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Pécs.

Trennung der zentralnervösen und der peripheren Thyroxinwirkungen.

Von

Josef Sós

Assistent am Institut.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 21. Januar 1939.)

I. Einleitung.

Die Tätigkeit der Schilddrüse wurde von jeher so aufgefaßt, daß sie einen wirksamen Stoff an das Blut abgibt und dieser in den Organzellen selbst die Verbrennungen steigert. An dem peripheren Angriffspunkt des Schilddrüsenhormons begann man erst zu zweifeln, als fast gleichzeitig von mehreren Autoren* gefunden wurde, daß das Thyroxin — welches inzwischen als der Wirkstoff der Schilddrüse erkannt wurde —, an isolierten Zellen und Organfragmenten nach Warburg geprüft, unwirksam sei.

Diese negativen Ergebnisse sowie die wohlbekannten zentralen Erregungen bei Basedowkranken und Thyreotoxicosen führten zu der Anschauung, daß das Thyroxin gar nicht auf die Organzellen selbst wirkt, sondern auf die Stoffwechselzentren des Zwischenhirns, und daß die dort gesetzten Erregungen auf dem Wege vegetativer Nerven den Organzellen zufließen, um in ihnen den Ruheumsatz zu steigern. Zu einer Wandlung dieser recht verbreiteten, aber unseres Erachtens unbegründeten Anschauung führte zunächst die Tatsache, daß es mehreren Autoren (Ahlgren[1], U. v. Euler[2], Mansfeld[3], Haarmann[4], Alwall und Scheff-Pfeifer[5]) gelungen ist, auch an isolierten Zellen und Organen durch Thyroxin eine Steigerung der Verbrennungen zu erzielen, so daß es heute keinem Zweifel unterliegt, daß Thyroxin die Fähigkeit besitzt, unter gewissen Bedingungen die Verbrennungen unmittelbar in den Organzellen zu steigern. Weiterhin konnte von Mansfeld[6] und seinen Mitarbeitern in einer Reihe von Arbeiten gezeigt werden, daß auch im ganzen Organismus das Thyroxin die Steigerung des Ruheumsatzes mit peripherem Angriffspunkt ohne Beteiligung der Zentren vollbringt, denn es konnte weder durch tiefste Narkose der Hirn-

---

* Schrifttum siehe bei G. Mansfeld: Art und Ort der Thyroxinwirkung. Klin. Wschr. **14**, 884 (1935). — [1] Ahlgren, G.: Skand. Arch. Physiol. **47**, 225 (1925). — [2] Euler, U. S. v.: Klin. Wschr. **12**, 671 (1933). — [3] Mansfeld, G.: Ebenda **14**, 884 (1935). — [4] Haarmann: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **180**, 167 (1935). — [5] Alwall, N., u. I. Scheff-Pfeifer: Ebenda **184**, 296 (1937). — [6] Mansfeld, G., u. v. Tyukody: Ebenda **188**, 633 (1938).

zentren, noch durch Unterbrechung sämtlicher zentralnervöser Impulse eine Herabsetzung des durch Thyroxin gesteigerten Ruheumsatzes erzielt werden.

Während es also heute keinem Zweifel unterliegt, daß das Thyroxin die Verbrennungen in den Organzellen selbst erhöht und auch nach Ausschaltung jeglicher nervöser Impulse den Ruheumsatz steigert, kann auf der anderen Seite nicht geleugnet werden, daß dem Thyroxin auch zentralnervöse Wirkungen eigen sind, welche sich in mächtigen Erregungen äußern. Es sei hier nur auf die Erregbarkeitssteigerung der motorischen Hirnrinde gegenüber O_2-Mangel (Duran[7]) und des zentralen Atmungsapparates gegenüber CO_2 (Landolt[8]) erinnert, sowie an die motorische Unruhe der Basedowkranken.

Daß diese zentrale Erregung durch gesteigerte Organtätigkeit (z. B. Muskeltremor) sekundär zu einem gesteigerten O_2-Verbrauch führt, ist selbstverständlich. Ungeklärt war die Frage, ob die zentrale Erregung auch den Ruheumsatz zu steigern vermag, und ob — wie vielfach angenommen wird — das Thyroxin auch vegetative Zentren erregt und diese zentralen Erregungen auf dem Wege vegetativer Nerven an die Peripherie gelangen, um dort ohne sichtbare Organtätigkeit in den ruhenden Zellen die Verbrennungen zu steigern? Die an Hunden mit gekreuzter Hirnzirkulation von Mansfeld[6] und Mitarbeitern ausgeführten Versuche führten zu dem Ergebnis, daß die durch Thyroxin bedingte Steigerung des Ruheumsatzes auch nicht zum Teil zentralnervös bedingt ist, so daß die willkürlich von manchen Autoren angenommene Erregung vegetativer Stoffwechselzentren bei der Thyroxinsteigerung des Ruheumsatzes keine Rolle spielt.

Daraus würde sich aber ergeben, daß die zentralerregende Wirkung des Thyroxins und seine peripher angreifende Stoffwechselwirkung wesensverschieden und voneinander weitgehend unabhängig sind. Eine Stütze dieser Anschauung erblickten wir u. a. auch darin, daß die Stoffwechselwirkung des Thyroxins bekanntlich erst nach einer Latenz von etwa 24 Stunden eintritt, während zentrale Erregungen, so z. B. die erhöhte Körpertemperatur oder die gesteigerte Empfindlichkeit gegenüber O_2-Mangel, schon viel früher zu beobachten sind. Es schien also nicht unwahrscheinlich, daß durch Verfolgung der zeitlichen Verhältnisse eine Trennung beider Thyroxinwirkungen möglich sei, wodurch die Unabhängigkeit der Stoffwechselwirkung von der zentralnervösen eine weitere Stütze erhalten würde. So hatten wir uns zum Ziele gesetzt, den zeitlichen Verlauf der Thyroxinwirkung auf Zentralnervensystem und Ruheumsatz einer Prüfung zu unterwerfen, und über das Ergebnis dieser auf Anregung von Prof. Mansfeld ausgeführten Untersuchungen berichten wir im folgenden.

[7] Duran, M.: Biochem. Z. **106**, 254 (1920). — [8] Landolt, H.: Z. Biol. **90**, 327 (1930).

II. Methodik.

Die Versuche wurden an Kaninchen ausgeführt. Als Maß der zentralerregenden Thyroxinwirkung wählten wir den Bewegungsdrang der Tiere, den wir mit dem ursprünglich für die Auswertung von Valerianapräparaten konstruierten Apparat von Kochmann und Kunz[9] quantitativ bestimmten: Das Tier sitzt in einem leichten Holzkäfig, der auf einem schwach geblähten Fahrradreifen ruht, so daß jede Bewegung des Tieres den Käfig in Erschütterung bringt. Diese Erschütterungen werden mittels Hebelvorrichtung auf ein Zahnrad übertragen, welches durch jede kleinste Bewegung des Käfigs nach vorwärts bewegt wird. Die an der Peripherie des Zahnrades befestigten acht Stifte, welche an einem Quecksilbernapf vorbeigleiten, dienen dazu, um durch Stromschluß einen Elektromagneten zu betätigen, welcher die Drehungsgeschwindigkeit des Zahnrades auf einen Kymograph von langsamem Gang (4 cm je Stunde) aufzeichnet. Diese Vorrichtung gibt ein richtiges Bild von der Beweglichkeit der Tiere, denn es wird nicht die Zahl der einzelnen Bewegungen ohne Rücksicht auf ihre Größe verzeichnet, sondern die Drehgeschwindigkeit des Zahnrades, die der Bewegungsgröße proportional ist. In Tabelle 1 wird die Drehungsgeschwindigkeit, also die Beweglichkeit der Versuchstiere durch die Anzahl der Elektromagnetzeichen je 3 Stunden dargestellt. Die Versuchseinrichtung ist aus Abb. 1 zu ersehen.

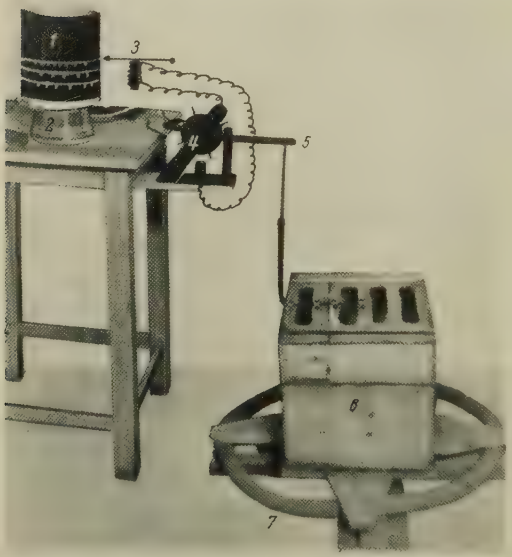


Abb. 1. Apparat zur Prüfung der Beweglichkeit von Kaninchen (Kochmann und Kunz), 1 und 2: Kymograph, 3: Elektromagnet, 4: Zahnrad, 5: Hebelvorrichtung, 6: Tierbehälter, 7: Fahrradreifen.

Die Bestimmungen des O_2-Verbrauchs wurden mittels eines für Kaninchen bestimmten Kroghschen Apparats ausgeführt. Die an die Apparatur durch wochenlange Übung gewöhnten Tiere atmeten durch Maske und Goldschlägermembranventile und verhielten sich während des Stoffwechselversuchs so ruhig, daß ein Aufbinden der Tiere ganz überflüssig war. Eine Art „Verbalsuggestion" — das ist dauerndes monotones

[9] Kochmann, M., u. H. Kunz: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **181**, 421 (1936).

Reden mit den Tieren — hatte sich gut bewährt, so daß selbst die durch Thyroxin erregten Tiere während des Stoffwechselversuchs sich vollkommen ruhig verhielten.

III. Versuche.

Nachdem die Tiere 1—2 Wochen durch täglich aufgenommene Stoffwechselversuche an die Apparatur gewöhnt waren und Tage hindurch ihre normale Beweglichkeit im Kochmannschen Apparat bestimmt war, begann der eigentliche Versuch: Das Tier kam in den Kochmannschen Apparat, in welchem seine Beweglichkeit in Perioden von 3 Stunden bestimmt wurde. Nach den 3-Stundenperioden wurde der Ruheumsatz festgestellt. Der erste Tag diente als Vorperiode. Am zweiten Tag frühmorgens bekam das Tier 1—2 mg Thyroxin subcutan. Seine Beweglichkeit wurde dann wieder in 3-Stundenperioden fortlaufend während 10 Stunden festgestellt und in den Zwischenzeiten der Ruheumsatz bestimmt. Nach jeder Thyroxingabe wurde die Untersuchung 3 Tage lang durchgeführt. Die Tiere erhielten ihr Futter täglich um 18 Uhr, so daß sie bis zum nächsten Stoffwechselversuch mindestens 15 Stunden nüchtern waren.

Das Ergebnis sehen wir in Tabelle 1 und 2.

Tabelle 1.

Änderung der Beweglichkeit von Kaninchen nach 1 mg Thyroxin. Die Zahlen bedeuten die Anzahl der Stromschlüsse je 3 Stunden.

Versuchstier Nr.	Vorperiode	Nach Thyroxin									
		0—5 Std.	Zunahme %	5—10 Std.	Zunahme %	24 Std.	Zunahme %	48 Std.	Zunahme %	7' Std.	Zunahme %
B 3	4	10	150	4	0	11	175	6	50	4	0
B 3	4	9	125	4	0	11	175	4	0	—	—
B 3*	3	18	500	4	0	—	—	—	—	—	—
T 1	12	18	50	—	—	18	50	13	8	9	0
T 2	7	10	43	7	0	12	72	10	43	7	0
V 1	8	13	62	12	50	10	25	6	—	9	12
V 2	3	8	166	3	0	14	360	—	—	—	
B 2	6	8	33	5	0	16	166	7	16	8	33
B 4	4	17	325	5	24	14	250	11	175	—	—
B 5	7	11	57	5	0	10	43	5	0	—	—
P 1	8	12	50	—	—	13	62	7	0	—	—
F 1	9	13	44	8	0	14	56	7	0	—	—
F 2*	4	9	125	—	—	9	125	6	50	—	—
	Mittel:		133		5		130		31		9

* 2 mg Thyroxin.

Die Versuche zeigen als erste Wirkung des Thyroxins eine gesteigerte Beweglichkeit als Ausdruck maximaler zentraler Erregung. Die Fortbewegung des Zahnrades ist über das Doppelte gesteigert. Diese Thyroxinerregung ist eine vorübergehende und klingt in den ersten 5 Stunden ab. Nach 5 Stunden ist der Bewegungstrieb der Tiere wieder normal geworden.

Tabelle 2. ccm O_2-Verbrauch je kg und Stunde.

Versuchstier Nr.	Gewicht in kg	Vorperiode	Nach Thyroxin 0–5 Std.	Differenz %	24 Std.	Differenz %	48 Std.	Differenz %	72 Std.	Differenz %
B 3	2,3	750	770	+ 2	910	+ 21	—			
T 1	2,0	620	—	—	820	+ 31	870	+ 40		
T 2	2,0	570	550	— 3	820	+ 44	860	+ 50	—	
V 1	2,5	670	—	—	870	+ 30	910	+ 36	870	+ 30
V 2	2,4	640	—	—	730	+ 14	680	+ 7	—	—
B 4	1,8	580	590	+ 2	650	+ 12	670	+ 16	700	+ 20
P 1	2,0	620	630	+ 1	—	—	700	+ 13	670	+ 7
F 2	2,6	630	600	— 5	650	+ 4	760	+ 21	750	+ 20
			Mittel:	0		+ 22		+ 26		+ 19

Es scheint sehr bemerkenswert, daß während dieser ersten Periode der Thyroxinwirkung der Ruheumsatz noch unverändert ist, daß also die zentralerregende Thyroxinwirkung nicht von einer Steigerung des Ruheumsatzes begleitet ist. Den gesteigerten Ruheumsatz sehen wir erst nach 24—48 Stunden eintreten (siehe Tabelle 2) und derselbe ist auch noch am dritten Tage fast unverändert.

Wenn wir die Steigerung des Ruheumsatzes mit der motorischen Unruhe der Tiere vergleichen, so zeigt sich die interessante Tatsache, daß zu Beginn der Ruheumsatzsteigerung, also 24 Stunden nach Verabreichung des Thyroxins, eine zweite Periode der zentralen Erregung einsetzt, die am nächsten Tage fast abgeklungen ist, während der Ruheumsatz erst um diese Zeit seinen Höchstwert erreicht. In Abb. 2 sehen wir die Mittelwerte sämtlicher Versuche graphisch dargestellt.

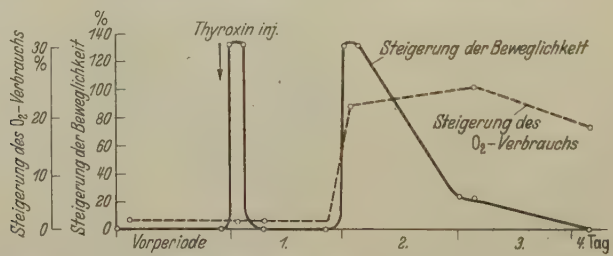


Abb. 2. Mittelwerte der prozentuellen Steigerung von Beweglichkeit und Ruheumsatz.

Während also in der ersten Periode der Thyroxinwirkung eine mächtige zentrale Erregung besteht ohne gesteigerten Ruheumsatz, sehen wir im späteren Verlauf, und zwar am dritten und vierten Tage der Wirkung, einen gesteigerten Ruheumsatz ohne zentrale Erregung. Beide Erscheinungen sprechen dafür, daß der durch Thyroxin bedingte gesteigerte Ruheumsatz nicht durch eine zentrale Erregung bedingt sein kann, sondern daß die Erregung des Zentralnervensystems und die Steigerung des Ruheumsatzes zwei voneinander weitgehend unabhängige Wirkungen des Thyroxins sind.

Unerklärt blieb aber noch die Tatsache, daß mit der Steigerung des Ruheumsatzes regelmäßig eine zwar vorübergehende, aber sehr bedeutende zentrale Erregung einhergeht.

Es frug sich nun, in welcher Beziehung die beiden Erscheinungen in diesem mittleren Zeitpunkt der Thyroxinwirkung zueinander stehen?

Nachdem, wie wir eben sahen, im späteren Verlauf der Thyroxinwirkung der gesteigerte Ruheumsatz ohne zentrale Erregung verläuft, war es sehr wahrscheinlich, daß auch im Anfangsstadium der Stoffwechselwirkung die Erhöhung der Verbrennungen nicht durch die zentrale Erregung bedingt ist, sondern umgekehrt der Anstieg der Wärmebildung sekundär zu einer allmählich abklingenden Erregung des Zentralnervensystems führt.

Um diese Möglichkeit auf ihre Richtigkeit zu prüfen, hatten wir im folgenden den Bewegungstrieb sowie die Änderung des Ruheumsatzes nach α-Dinitrophenol untersucht, von welchem bekannt ist, daß es seine Wirkung auf die Verbrennungen mit peripherem Angriffspunkt entfaltet.

Das Ergebnis dieser Versuche ist in Tabelle 3 zusammengestellt.

Tabelle 3. Änderung des Ruheumsatzes und der Beweglichkeit von Kaninchen nach α-Dinitrophenol.

Versuchstier Nr.	ccm O_2-Verbrauch je kg/Std.			Beweglichkeit der Tiere		
	Vorperiode	3 Std. nach α-Dinitrophenol	Steigerung %	Vorperiode	0—3 Std. nach α-Dinitrophenol	Steigerung %
V 3	550	890	62	10	50	400
T 3	620	690	11	2	8	300
T 4	690	800	16	2	6	200
B 6	770	1140	47	14	23	64
S 1	710	760	6	9	14	56
S 4	970	1050	8	5	8	60
F 3	820	920	12	8	13	62
F 4	840	1330	58	3	7	133
F 5	570	890	56	5	14	180
			Mittel: + 31			+ 162

Die Versuche ergaben, daß auch hier wie bei der Thyroxinwirkung während des Anstiegs der Wärmebildung eine bedeutende zentrale Erregung erfolgte, welche sich in einer noch stärkeren motorischen Unruhe äußerte als in den Thyroxinversuchen. Dies spricht in Anbetracht der Tatsache, daß die Stoffwechselwirkung des α-Dinitrophenols eine rein periphere ist, dafür, daß die Steigerung der Verbrennnugen an und für sich sekundär zu einer Erregung des Zentralnervensystems führt, wodurch das Zusammenfallen der motorischen Unruhe mit dem Anstieg der Verbrennungen bei der Thyroxinwirkung geklärt erscheint.

Unsere Versuche erbrachten also eine weitere Stütze dafür, daß die durch Thyroxin hervorgerufene Steigerung der Verbrennungen nicht die

Folge zentraler Erregungen ist, denn durch Prüfung der zeitlichen Verhältnisse ließ sich zeigen, daß die Erregung des Zentralnervensystems und die Steigerung des Ruheumsatzes zeitlich getrennt verlaufen und voneinander weitgehend unabhängig sind.

Zusammenfassung.

Um die Frage zu untersuchen, inwiefern die Steigerung des Ruheumsatzes nach Thyroxin durch die Erregung nervöser Zentren bedingt ist, wurde an Kaninchen der zeitliche Verlauf der zentralen Erregung — gemessen am Bewegungstrieb der Tiere — und des Ruheumsatzes — bestimmt nach Krogh — verfolgt. Es zeigte sich dabei folgendes:

1. Als erste Wirkung des Thyroxins tritt eine bis über das Doppelte gesteigerte Beweglichkeit ein, während welcher der Ruheumsatz unverändert ist. Diese erste zentrale Erregung klingt nach 5 Stunden ab.

2. Nach 24 Stunden setzt die Steigerung des Ruheumsatzes ein und erreicht ihr Maximum meist nach 48 Stunden und ist am dritten Tage noch fast unverändert.

3. Mit der Steigerung des Ruheumsatzes setzt eine zweite zentrale Erregung ein, welche am nächsten Tage bereits fast abgeklungen ist, während der Ruheumsatz entweder unverändert hoch bleibt oder noch weiter ansteigt.

4. Die Versuche mit α-Dinitrophenol zeigten, daß auch bei diesem zweifellos peripher angreifenden Stoffwechselgift die Steigerung der Wärmebildung mit einer zentralen Erregung einhergeht.

5. Die Versuche zeigen, daß die Thyroxinsteigerung der Verbrennungen nicht die Folge zentraler Erregungen ist, und daß die Wirkungen des Thyroxins auf Zentralnervensystem und Ruheumsatz zeitlich getrennt verlaufen und voneinander weitgehend unabhängig sind.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin.

Über Bedingungen der oestrogenen Wirkung*.

Von

H. Druckrey.

(Eingegangen am 24. Januar 1939.)

1.

Der Wert eines biologischen Testes wird durch den Grad seiner Spezifität bestimmt. So bedeutete es eine wesentliche Einschränkung der Bedeutung des „Oestrus"-Testes (Allen und Doisy) für den Nachweis des Oestrons und verwandter Follikelhormone, als Ludwig und von Ries[1] mitteilten, daß sie mit Cantharidin und Yohimbin ($\backsim 100\,\gamma$) das gleiche „Schollenstadium" auslösen könnten, wie mit den Follikelhormonen. Dieser Einwand schien um so bedeutsamer, als auch am Glaser- und Haempelschen „Fischtest" mit diesen Pharmaca eine positive Reaktion zu erzielen war[2]. Inzwischen liegen jedoch Untersuchungen[3] vor, nach denen der Fischtest für die Testierung von Keimdrüsenhormonen als ungeeignet bezeichnet werden muß. Auch konnte andererseits d'Amour[4] die Befunde von Ludwig und von Ries hinsichtlich des Cantharidins nicht bestätigen.

Da das Yohimbin sich als Aphrodisiacum bewährt hat, schien es wünschenswert, auch diese Substanz auf ihre oestrogene Wirkung nachzuprüfen**. Das zur Verfügung stehende Präparat war zunächst das salzsaure Yohimbin „Spiegel". Die Prüfung erfolgte an kastrierten Ratten, deren normale Ansprechbarkeit für Oestron geprüft war. Auf intramuskuläre oder subcutane Injektion von täglich 20 bis $100\,\gamma$/100 g Ratte blieb der Scheidenabstrich über 5 Tage völlig negativ. Ebenso negativ verliefen Versuche mit ölgelöstem Yohimbin.

Trotz dieses eindeutigen Resultates wurden weitere Untersuchungen an infantilen Mäusen angestellt, weil möglicherweise das Yohimbin durch eine hyperaemisierende Wirkung auf die Ovarien eine sexuelle Frühreife erzeugen könnte. Aus diesem Grunde wurden infantile Mäuse mit einem Gewicht von 6—8 g 7 Tage lang mit Yohimbin hydrochlorid subcutan behandelt, und zwar erhielt eine Gruppe täglich $20\,\gamma$, die andere $100\,\gamma$. Steigerung der Dosis auf 1 mg pro Maus führte unter Krämpfen zum Tode.

* Durchgeführt mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.
** Für die Durchführung eines großen Teiles dieser Versuche habe ich Frl. Christa Noack zu danken.

[1] Ludwig, F., u. I. von Ries: Schweiz. med. Wschr. **62**, 401 (1932). — [2] Glaser, E., u. A. Komeza: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **182**, 219 (1936). — [3] Müller, H. A.: Endokrinologie **18**, 251 (1937). — [4] d'Amour, M. C.: Endocrinology (Am.) **18**, 235 (1934).

Bei keinem dieser Tiere fanden sich Zeichen einer vorzeitigen Geschlechtsreife, weder an den Ovarien noch am Scheidenabstrich.

Ein letzter Einwand wäre in der Richtung möglich, daß vom salzsauren Yohimbin nur eine akute Wirkung zu erwarten sei, wie sie auch bei seiner Anwendung als Aphrodisiacum zu beobachten ist. Die Erzeugung eines Oestrus setze dagegen eine wenigstens über einen Tag anhaltende Wirkung voraus. Auf Grund solcher Überlegungen erfolgte die Untersuchung einiger Ester des Yohimbins, nämlich des α-Bromisovaleryl-, des Diäthylacetyl- und des Monostearyl-Yohimbins*. Sämtliche Substanzen wurden in Öl gelöst und intramuskulär gespritzt. Als Versuchstiere dienten wieder die oben erwähnten kastrierten Ratten, die in je einer Gruppe 0,1, 1,0 und 10 mg der Yohimbinpräparate pro 100 g Ratte als einmalige Dosis erhielten. Die Scheidenabstriche wurden über 5 Tage geprüft. Sie blieben negativ.

Die bekannte Wirkung des Yohimbins als Aphrodisiacum beruht also sicher auf ganz anderen Mechanismen, als die oestrogene Wirkung der Follikelhormone. Wenn Ludwig und von Ries einen positiven Scheidenabstrich gefunden haben, so mag es sich hier vielleicht nicht um einen Oestrus, sondern um eine Kolpokeratose gehandelt haben. Darunter versteht man eine Verhornung des Vaginalepithels, die bei Vitamin-A-Mangel schon sehr frühzeitig und unabhängig vom Oestruszyklus auftritt [5, 6], aber dasselbe Bild im Scheidenabstrich gibt, wie ein Oestrus. Für diese Annahme spricht, daß die genannten Autoren trotz des positiven Scheidenabstrichs auf Cantharidin oder Yohimbin keine Reaktion des Uterus gesehen haben, wie sie für die Wirkung der oestrogenen Stoffe charakteristisch ist.

2.

Die weitgehende Übereinstimmung des Scheidenabstrichs bei Oestrus und Kolpokeratose läßt es für möglich halten, daß die Wirkung oestrogener Stoffe und von Vitamin A auf das Vaginalephitel sich gegenseitig beeinflussen. Wäre dies der Fall, dann müßten bei Vitamin-A-Mangel bereits geringere Dosen Follikelhormon als normal für die Erzeugung eines Oestrus ausreichen, oder umgekehrt: Durch hohe Dosen Vitamin A müßte die Empfindlichkeit der Versuchstiere gegen Oestron soweit herabgesetzt werden können, daß zur Erzeugung einer Brunst höhere Dosen Oestron als normal erforderlich werden. Für die letztgenannte Möglichkeit könnten Versuche von Domagk [7] sprechen, der durch hohe Dosen Vitamin A die Verhornung an normal verhornenden Stellen verhindern konnte.

Zunächst wurde untersucht, ob es möglich ist, durch hohe Dosen von Vitamin A die oestrogene Wirkung einer gerade sicher wirksamen

* Die Präparate wurden uns von der Kali-Chemie A.-G. zur Verfügung gestellt.

[5] Reiss, M., u. Tereny: Endokrinologie **1**, 411 (1928). — [6] Hohlweg u. Dohrn: Z. exper. Med. **71**, 762 (1930). — [7] Domagk, G. u. P. v. Dobeneck: Virchows Arch. **290**, 385 (1933).

Oestron-Dosis aufzuheben. 16 kastrierte weibliche Ratten erhielten 120000 E Vitamin A (Vogan) und gleichzeitig 4 γ Oestron in öliger Lösung subcutan injiziert. Der Scheidenabstrich wurde trotzdem bei allen Tieren positiv. Hohe Vitamin-A-Dosen vermögen die Verhornung des Vaginalepithels also nicht zu verhindern.

Um die Frage zu prüfen, ob Vitamin A eine relative Hemmung der oestrogenen Wirkung verursacht, wurden quantitative Versuche in der Anordnung nach Behrens und Kärber[8] angeschlossen. 35 kastrierte weibliche Ratten, deren Scheidenabstriche bei mehrfacher Kontrolle negativ befunden waren, wurden in 7 Gruppen zu je 5 Tieren aufgeteilt und jede Gruppe von 0,7 γ pro Tier angefangen mit einer um 20% ansteigenden Dosis Oestron in öliger Lösung gespritzt*, und zwar verteilt auf 3 Dosen innerhalb eines Tages. Die mittlere wirksame Dosis wurde mit 1,08 γ/Tier bestimmt. Nach einer Pause von 3 Wochen wurden die gleichen Tiere nach Kontrolle des Scheidenabstrichs erneut mit den oben genannten Dosen Oestron und gleichzeitig mit einer einmaligen Dosis von 12000 E Vitamin A gespritzt. Die mittlere wirksame Dosis betrug jetzt 1,39 γ. Der Versuch wurde wiederholt, und zwar in der Anordnung, daß das Oestron nicht auf 3 Dosen verteilt, sondern auf einmal gespritzt wurde. Bei diesem Verfahren liegt der Wert für die mittlere wirksame Dosis erfahrungsgemäß etwas höher. Sie betrug für die Kontrollen 1,53 γ und für die Versuchstiere mit Vitamin A 1,66 γ. Nach diesen Ergebnissen scheint Vitamin A also die Verhornung des Vaginalepithels durch Oestron in geringem Maße zu hemmen. Der mittlere Fehler bei solchen Bestimmungen muß indessen nach den gründlichen methodischen Untersuchungen von Behrens, Heubner, Koll und Külz[9] mit wenigstens $\pm$ 10% angenommen werden. Danach läge die Abweichung zwischen Versuchs- und Kontrollgruppe bei der ersten Bestimmung zwar etwas außerhalb der Fehlerbreite, das zweite Ergebnis beider Gruppen stimmt dagegen einigermaßen überein. Berücksichtigt man, daß eine relativ hohe Vitamin-A-Dosis einem Schwellenwert Oestron gegenübersteht, so kann das Ergebnis dieser Versuche nur so verstanden werden, daß die Verhornung des Vaginalepithels beim künstlich erzeugten Oestrus der kastrierten Ratte durch Vitamin A praktisch nicht gehemmt wird.

Die Frage, ob bei Vitamin-A-Mangel eine erhöhte Ansprechbarkeit des Vaginalepithels gegen Oestron besteht, läßt sich nicht exakt klären, weil eines der ersten Symptome des Vitamin-A-Mangels bei der kastrierten Ratte eben die Kolpokeratose ist, die Abstriche also von vornherein Schollen zeigen. Es mag jedoch von Interesse sein, zu erwähnen, daß eine Serie kastrierter Ratten, die avitaminotisch geworden waren und eine

* Für die Durchführung dieser Untersuchungen habe ich Frl. Gerda Speiermann zu danken.

[8] Behrens, B., u. G. Kärber: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **177**, 379 (1935). — [9] Behrens, B. W. Heubner, W. Koll, u. F. Külz: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **186**, 121 (1937).

Kolpokeratose bekommen hatten, nach Zulage von Mohrrüben zum Futter bereits nach 24 Stunden wieder einen negativen Vaginalabstrich zeigten und bei der nächsten Prüfung mit dem internationalen Standard-Oestron quantitativ normal reagierten.

Nach diesen Ergebnissen kann ein wechselnder Vitamin-A-Gehalt der Nahrung die Resultate quantitativer Versuche mit Oestron an kastrierten Ratten nicht wesentlich verfälschen, sofern nicht ein so hochgradiger Vitamin-A-Mangel besteht, daß es zur Kolpokeratose kommt. Die von Domagk[8] beobachtete Hemmung der Verhornung durch Vitamin A gilt also nicht für die Verhornung des Vaginalepithels unter Oestronwirkung.

3.

Bei den Untersuchungen über die Bedingungen der Follikelhormonwirkung schien mir die Frage von besonderem Interesse, ob die Wirkung dieses Hormons auf den Uterus, die ja bei oberflächlicher Betrachtung völlig im Vordergrund steht und deretwegen das Follikelhormon meist ohne weiteres als „Wuchsstoff" bezeichnet wird, tatsächlich so ausschließlich wichtig ist, daß die Wirkungen des gleichen Hormons auf andere Organe oder Funktionen völlig in ihrer Bedeutung zurücktreten. Wäre dies der Fall, so müßte der Uterus auch weit mehr Hormon „verbrauchen" und damit unwirksam machen, als andere Organe. Nach Exstirpation des Uterus müßte also eine gegebene Menge Oestron auf die verbliebenen Erfolgsorgane, z. B. auf das Vaginalepithel eine stärkere Wirkung entfalten, als an einem Tier, das den Uterus noch besitzt, es müßte also der Scheidenabstrich eines hysterektomierten kastrierten Tieres bereits nach relativ geringen Oestrondosen positiv werden. Da diese Frage eine gewisse grundsätzliche Bedeutung für die Wirkung der Follikelhormone besitzt, wurde sie untersucht.

Die Hysterektomie erfolgte mittels Laparatomie in Äther- bzw. Avertinnarkose. Nach Unterbindung der im Mesouterus verlaufenden Gefäße wurden beide Hörner scheidenwärts abpräpariert und einschließlich der Portio vaginalis entfernt. Die Vagina ließ sich etwas einstülpen und mit tabaksbeutel-ähnlichen Stichen Serosa gegen Serosa wieder verschließen. Die Operation wurde sehr gut überstanden. Nach mehrfach durchgeführten Kontrollabstrichen kamen die Tiere in den Versuch. Die Testierung mit Follikelhormon geschah wieder nach Behrens und Kärber[7] mit einem Dosenabstand von 15%.

Die berechnete mittlere Wirkungsdosis betrug bei den hysterektomierten Tieren 1,53 γ/Ratte gegenüber 1,10 γ/Ratte im Kontrollversuch. Die für die Oestrus-Veränderungen des Vaginalepithels erforderliche Dosis Oestron ist also durch die Ausschaltung des Uterus nicht kleiner geworden, wie es hätte sein müssen, wenn der Uterus einen beträchtlichen Anteil des Hormons verbrauchte, sie ist vielmehr deutlich größer. Die

Reaktionsfähigkeit des Vaginalsepithels scheint damit am hysterektomierten kastrierten Vagus sogar etwas herabgesetzt zu sein.

Dies Ergebnis, daß die Ratten nach der Exstirpation des Uterus nicht empfindlicher auf oestrogene Stoffe reagieren, entspricht durchaus den Erwartungen. Die Wirkung der Follikelhormone erstreckt sich sicher nicht nur auf einige wenige Organe, sondern ist von so allgemeiner Bedeutung für den ganzen Organismus, daß der Hormonbedarf auch durch die Ausschaltung eines besonders wesentlich erscheinenden Organs nicht herabgesetzt wird. Es kann wohl als gesichert gelten, daß die Follikelhormone außerordentlich vielseitige, unmittelbare und mittelbare Wirkungen besitzen. Sie wirken nicht nur auf die Uterusmuskulatur wachstumsanregend, sondern bewirken eine entsprechende Proliferation auch in den epithelialen Elementen der Uterus- und Vaginalschleimhaut. Ferner unterliegt ihrer Wirkung die Ausbildung der Milchdrüsen. Sie verursachen eine Lockerung der Symphysenfuge und greifen entscheidend in den Kalkstoffwechsel ein, wirken auf andere endokrine Organe, besonders die Hypophyse, die Schilddrüse und Nebennieren, bestimmen den Charakter der Behaarung, des Federkleides und die Beschaffenheit der Haut. Kurz: Kein Gewebe des Organismus entzieht sich dem Einfluß des Follikelhormons[10]. Für den „Verbrauch" des Hormons kommt also auch nicht nur ein Organ, sondern der gesamte Organismus in Frage. Damit kann die Exstirpation des Uterus auch die Empfindlichkeit eines Kastraten gegenüber Follikelhormon nicht ändern.

Die Tatsache, daß oft eine bestimmte unter vielen möglichen Wirkungen irgendeines Stoffes entweder besonders eindrucksvoll erscheint (Uteruswachstum) oder methodisch leicht feststellbar ist, verleitet leider oft, in dieser einen Wirkung die wesentliche Funktion des Stoffes zu sehen, obwohl andere, nur weniger leicht zu bemerkende Wirkungen die gleiche oder gar noch höhere Bedeutung haben können. Diese Überlegungen zeigen auch, wie abwegig es ist, das Follikelhormon ohne weiteres als „Wuchsstoff" zu bezeichnen.

Zusammenfassung.

1. Yohimbin und verschiedene Ester dieser Substanz sind entgegen anderslautenden Angaben am „Scheidenabstrich-Test" bei der kastrierten Ratte ohne Wirkung.

2. Vitamin A, dessen Fehlen zur Verhornung des Vaginalepithels führt, vermag auch in hohen Dosen die bei der Brunst auftretende Verhornung nicht zu hemmen.

3. Durch Exstirpation des Uterus wird die zur Erzeugung eines Oestrus bei der kastrierten Ratte notwendige Dosis Follikelhormon nicht herabgesetzt, sondern etwas erhöht.

[10] Druckrey, H.: Med. Welt, Heft 5 (1936).

Aus der chemischen Abteilung des Pathol. Instituts der Universität Berlin.

Über die Ausscheidung von parenteral zugeführtem Cardiazol aus dem Organismus.

Von

K. Hinsberg.

(Eingegangen am 9. Januar 1939.)

Über das Schicksal des Cardiazols (C.) im Organismus ist noch wenig bekannt. Dies hat verschiedene Gründe, u. a. weil seiner quantitativen Bestimmung technische Schwierigkeiten entgegenstehen, die bislang noch nicht beseitigt werden konnten. Die Löslichkeitsverhältnisse des C. für die Analyse sind so ungünstig, daß sich eine quantitative Extraktion sehr schwierig gestaltet. Ausgeprägte basische Eigenschaften besitzt das C. nicht, außerdem ist es in allen bekannten Lösungsmitteln leicht löslich. Das Verteilungsverhältnis zwischen zwei nicht mischbaren Lösungsmitteln wird also immer in der Nähe von 1 liegen. Zwicker[1] beschreibt zwar, daß man nach Sättigung mit Ammoniumsulfat noch 0,1 g Cardiazol aus 25 ccm Wasser mit 5 ccm Tetrachlorkohlenstoff in einem Ausschüttelungsgang zu 94% zurückgewinnen könne, doch ist dies nur bei reinen Lösungen möglich, nicht aber in Organextrakten, bei denen durch Zusatz von starken Salzlösungen immer große Mengen von Verunreinigungen in das Extraktionsmittel getrieben werden. Eine andere Möglichkeit der Cardiazolbestimmung wäre die Fällung als charakteristisches Salz oder Komplexverbindung. Hierzu ist oft die von Schmidt[2] entdeckte Doppelverbindung mit $HgCl_2$ verwendet worden, aber die Löslichkeit des Niederschlages beträgt immer noch 1 : 5000 (nach Esser 1 : 800), ist also zur Gewinnung von Mikromengen viel zu groß und bringt einen großen Fehler mit sich. Außerdem ist die Abwesenheit von Alkalichlorid notwendig, weil sich sonst der Niederschlag wieder leicht auflöst. Andere Reagenzien, wie z. B. Cuprochlorid, sind für die Aufarbeitung von Organextrakten ungeeignet, weil sich keine reinen Niederschläge erzielen lassen, obschon die Löslichkeit des Niederschlages, 1 : 40000, für analytische Arbeiten geeigneter wäre als der $HgCl_2$-Niederschlag.

Die Unvollkommenheiten der heutigen Analysenmethoden gehen besonders deutlich aus dem von Esser und Kühn[3] beschriebenen Fall eines Selbstmordes mit C. hervor, bei welchem von einem gesunden jungen Mann 10 g C. bzw. 100 ccm 10%iges Cardiazol liquid. getrunken wurden und kurz nach dem Tode die C.-Mengen in einer großen Reihe von

[1] Pharmac. Weekblad **42**, 1170 (1934). — [2] Klin. Wschr. 1925, Nr. 35. — [3] Sammlung von Vergiftungsfällen Bd. 4 (1933).

Organen bestimmt wurden. Von der Gesamtmenge fanden sich noch 2,6 g im Magen bzw. der Spülflüssigkeit. Resorbiert waren mithin 7,4 g, aber von dieser Menge konnten nur 0,6 g = 8,1% im Darm, Leber, Milz, Niere, Herz, Gehirn, Blut und Urin gefunden werden. Immerhin kann aus den von Esser und Kühn mitgeteilten Zahlen abgeleitet werden, daß die Leber anscheinend viel Tetrazol speichert (und entgiftet?), daß aber nur verschwindend wenig in Niere und Urin zu finden ist. Dies spricht unseres Erachtens dagegen, daß die Niere als Ausscheidungsorgan überwiegend in Betracht kommt; sonst hätte man mehr Cardiazol im Urin, besonders bei der hohen Dosierung — im vorliegenden Falle Suicid —, finden müssen. An die Ausscheidung durch den Dickdarm haben Esser und Kühn ebenfalls schon gedacht, doch war in dem von ihnen beschriebenen Falle hierüber keine Entscheidung möglich, weil das Gift peroral eingenommen worden war.

Von Esser und Kühn wurden zwar 16 mg Cardiazol im Harn des Suicidfalles nachgewiesen und außerdem auf die deutlichen anatomischen Veränderungen der Nieren hingewiesen. Aber im Hinblick darauf, daß 7,4 g C. resorbiert wurden, bedeuten diese 16 mg nur sehr wenig. Demgegenüber haben Granér und Santesson[4] sowohl in Selbstversuchen wie auch bei Kaninchen niemals Cardiazol im Harn nachweisen können, und auch uns ist es weder bei Hunden noch bei Kaninchen oder Meerschweinchen gelungen, C. jemals im Harn nachzuweisen, auch nicht nach saurer oder alkalischer Hydrolyse. Auch Leppert[5] konnte in Selbstversuchen kein C. im Harn finden, und bei einem Hund, der insgesamt 1,55 g C. erhalten hatte, fanden sich nur Spuren von C. im Harn, die in der üblichen Methode mit $HgCl_2$ nachgewiesen wurden (Leppert konnte mit seiner modifizierten Methode aus 250 ccm Harn von 0,5 g C. rund 90% wiedergewinnen.). Man kann also annehmen, daß in seinen Versuchen wirklich nur sehr wenig unverändertes C. im Harn erschienen ist. Auch N. I. Schulte[6] konnte nach neueren Untersuchungen kein Cardiazol im Harn nach i. v. Belastung nachweisen, während mit der von ihm angewandten Methode der Nachweis im Serum möglich war.

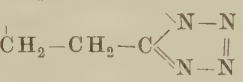
Da nach den bisherigen Versuchen eine unveränderte Ausscheidung durch die Nieren sehr unwahrscheinlich war, bleibt noch die Frage offen, wie es mit dem Abbau im Organismus steht. Diesbezüglich wird von Esser und Kühn angenommen, daß in Herz und Gehirn, den klinisch anatomisch bei der Vergiftung in erster Linie betroffenen Organen, eine nicht unerhebliche Umsetzung des Cardiazols in chemisch nicht faßbare Verbindungen stattfinden kann. Demgegenüber ist von Ridder gezeigt worden, daß Cardiazollösungen bei der Durchströmung von Kalt- und

---

[4] Skand. Arch. Physiol. **52**, 252 (1927). — [5] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **118**, 259 (1926). — [6] Pharmac. Weekblad 1938, Nr. 15.

Warmblüterlebern nicht an Wirkungsstärke einbüßen, wie mit der Methode der Bestimmung der Krampfdosis am ganzen Frosch gezeigt werden konnte.

Dies steht in Übereinstimmung mit eigenen Versuchen, aus denen hervorgeht, daß weder Leberbrei noch Leberschnitte in der Lage sind, zugesetztes C. zum Verschwinden zu bringen. Auch bei der Fäulnis der Organe verschwindet kein Cardiazol. Die chemische Konstitution des C.



läßt auch keine Angriffsmöglichkeit des Organismus erkennen und die große chemische Beständigkeit und oxydative Unangreifbarkeit des Moleküls läßt erwarten, daß es im Organismus nicht schnell aufgespalten wird, was sowohl von Esser und Kühn wie auch von Zwicker betont worden ist. Demnach blieb nur möglich, daß das C. im wesentlichen den Körper nicht über den Weg der Niere, sondern durch den Darm verläßt.

Um aber diese Frage beantworten zu können, mußte vor allem eine bessere Analysenmethode gefunden werden, mit welcher auch noch kleine Mengen von C. sicher nachzuweisen waren. Molybdänsäure ist schon früher ohne Erfolg versucht worden, ebenso erwies sich Wolframsäure als nicht besser, aber durch Phosphorwolframsäure konnte ein sehr gut kristallisierender und schwer löslicher Niederschlag erzeugt werden, mit dessen Hilfe sich noch 0,125 mg Cardiazol in 3 ccm Lösung nachweisen lassen (1 : 24000). Neben der Schwerlöslichkeit hat die Verbindung den Vorteil, ein großes Molekulargewicht zu besitzen, so daß 100 mg Niederschlag nur 12,1 mg Cardiazol entsprechen. Auf meine Bitte wurden von der Firma Knoll in deren analytischem Laboratorium die Fällungsbedingungen durch Herrn Dr. Wolff genauer studiert und folgende optimalen Bedingungen erhalten.

Zu 20 ccm neutraler Cardiazollösung (0,1000%) gibt man 25 ccm 25%ige Salzsäure und 5 ccm 10%ige Phosphorwolframsäure. Nach mehrstündigem Stehen wird der Niederschlag in einem gewogenen Porzellanfiltertiegel gesammelt und 4mal mit 5 ccm 12,5%iger HCl ausgewaschen. Man trocknet $^1/_2$ Stunde bei 105° und wiegt nach dem Erkalten, und kontrolliert das Gewicht durch wiederholtes Trocknen. Dem gefundenen Gewicht werden 4,0 mg hinzugezählt, um den Verlust bei der Fällung und beim Auswaschen auszugleichen. Für die allgemeine Anwendung der Reaktion sind folgende Gesichtspunkte maßgebend. Je geringer die HCl-Konzentration ist, desto unvollständiger ist die Abscheidung der Verbindung. Am praktischsten ist eine HCl-Konzentration von 12,5%. Bei höherer Säurekonzentration ist mit einer Abscheidung von Phosphorwolframsäure aus dem Reagens zu rechnen, die sicher schon bei 19% HCl eintritt. Umgekehrt darf auch die Konzentration der Phosphorwolframsäure nicht zu hoch sein; die bei der angegebenen HCl-Menge höchstens 20% betragen darf. Die Löslichkeit des Niederschlages selbst kann bei einer quantitativen Untersuchung nicht vernachlässigt

werden und beträgt in dem angegebenen Reaktionsgemisch etwa 6 mg%, dazu kommt noch der Verlust für das Auswaschen, der mit 5 mg für 10mal 10 ccm HCl 12,5%ig angesetzt werden kann.

Die Fällung ist nach 2 Stunden praktisch vollständig, wenn mehrfach in der Zwischenzeit mit einem Glasstab umgerührt wird. Man findet aus dem Gewicht des Niederschlages die Menge Cardiazol durch Multiplikation mit 0,121. Dieser Faktor wurde empirisch durch Analyse einer 0,1000%igen Cardiazollösung gefunden. Die Elementaranalyse des Niederschlages ergab folgende Zusammensetzung:

C	= 6,67%	entsprechend 12,77%	Cardiazol
N	= 5,07%	„ 12,45%	„
P_2O_5	= 2,20%		
WO_3	= 82,63%		

Der Glührückstand mit 13,8% ist gut reproduzierbar. Zusammensetzung:

$$6\,\text{Cardiazol} \cdot P_2O_5 \cdot 24\,WO_3 \cdot \text{etwa } 10\,H_2O.$$

Mol.-Gew. 6713.

Bei der quantitativen Fällung reiner Lösungen, die unmittelbar analysiert werden, bleibt der analytische Fehler innerhalb 2%. Bei Organextrakten sind die durch die Extraktion unvermeidlichen Fehler hinzuzuzählen. Immerhin gibt das Verfahren die Möglichkeit in die Hand, selbst sehr kleine Cardiazolmengen qualitativ sicher nachzuweisen. Wir haben das Verfahren nur zum qualitativen Nachweis des C. aus Organextrakten od. dgl. benutzt. Speziell interessierte die Möglichkeit des Nachweises im Darm und Darminhalt; dabei haben wir folgenden Analysengang eingehalten:

Die einzelnen Organe werden mit der Schere möglichst klein geschnitten, auf dem Wasserbad getrocknet und 2mal mit Chloroform je 30 Minuten auf der Schüttelmaschine geschüttelt, extrahiert und filtriert. Dabei haben wir vorsichtshalber den Organbrei entweder mit Weinsäure oder mit wenig HCl vor dem Eintrocknen angesäuert. Der Filterrückstand wird noch mit etwas Chloroform nachgewaschen, die vereinigten Chloroformauszüge eingedampft und zuletzt im Vakuum bei mäßiger Wärme vollkommen getrocknet. Der Rückstand wird mit Wasser-Petroläther aufgenommen, dabei bleibt das C. im Wasser, während der Petroläther gefärbte Verunreinigungen aufnimmt. Dies hat den Zweck, von Fett und Lipoiden abzutrennen. In reinem Petroläther ist Cardiazol nur schwer löslich, aber in Gegenwart von Lipoiden steigt die Löslichkeit gewaltig, so daß an dieser Stelle der Analyse bei Anwesenheit von viel Lipoiden mit beträchtlichen Verlusten an Cardiazol gerechnet werden muß. Das Wasser wird abgetrennt und der Petroläther mehrfach mit Wasser gewaschen, die gesammelten wässrigen Auszüge mit 1—2 Tropfen starker HCl angesäuert und stark eingeengt. Zu diesem Konzentrat gibt man zu je 4 ccm 5 ccm 25%ige HCl und 1 ccm Phosphorwolframsäure (10%ig) und sammelt den Niederschlag nach mehrstündigem Stehen, am besten am folgenden Tag und kristallisiert, wenn nötig, aus heißem Wasser um. Meist zeigen sich direkt die charakteristischen spitzen glänzenden Nadeln, die von amorphen Verunreinigungen leicht zu unterscheiden sind.

Es gelingt auch leicht, den in heißem alkalischen Wasser gelösten Niederschlag durch Zusatz von Barytwasser zu zersetzen, nach dem Erkalten das phosphorwolframsaure Barium abzufiltrieren und das überschüssige Bariumhydroxyd im Filtrat durch vorsichtigen Zusatz von verdünnter Schwefelsäure zu fällen. Der Niederschlag von $BaSO_4$ wird am besten zentrifugiert, das klare Zentrifugat, wenn nötig, noch eingeengt und dann mit gesättigter $HgCl_2$-Lösung versetzt. Es

erscheinen sehr bald die nach Schmidt für C. charakteristischen Kristalle, welche durch ihren Schmelzpunkt charakterisiert werden können. Dies ist wichtig, weil das unlösliche Produkt mit Phosphorwolframsäure keinen Schmelzpunkt hat.

Mit dieser Methode haben wir folgende Versuche durchgeführt, wozu wir meist Meerschweinchen verwendeten. Zwei nüchterne Meerschweinchen von 429 und 465 g Gewicht erhalten um 10,15 Uhr je 100 mg Luminal in Bicarbonat gelöst subcutan. Desgleichen zwei Kontrolltiere. Um 11,15 Uhr erhalten die Versuchstiere je 150 mg Cardiazol subcutan. Das eine Tier schläft ruhig, während das schwerere bei Berührung mit den Beinen zuckt. Um 14,00 Uhr werden alle Tiere getötet und paarweise aufgearbeitet. Es kommen getrennt zur Untersuchung:

1. Dünndarm-Magen. 2. Dünndarm-Mageninhalt. 3. Leber. 4. Dickdarm. 5. Dickdarminhalt. 6. Lunge. 7. Galle (sehr wenig). 8. Urin (nur sehr wenig.

Die einzelnen Portionen werden, wie oben beschrieben, extrahiert und am folgenden Morgen auf Kristallbildung kontrolliert. Die Ausschüttlung mit Wasser (Petroläther) gelang bei der Leber nur schlecht. Bei den Kontrolltieren konnte in keinem Falle typische Kristallbildung beobachtet werden. Bei den Versuchstieren fanden sich reichlich Kristalle in den Auszügen von Dünndarm- und Mageninhalt, viel Kristalle in den Extrakten aus Dünndarm und Magen selbst und noch deutliche Kristallabscheidung bei Mastdarm und Leber. Bei der Leber wurde noch ein reichlicher amorpher Niederschlag abgeschieden, der nicht weiter untersucht wurde. In den übrigen Proben wurden auch bei den Kontrolltieren keine kristallinen Niederschläge gefunden, wohl aber z. T. amorphe Fällungen.

In einem weiteren Versuch wurden in derselben Weise vier Meerschweinchen insgesamt 260 mg Cardiazol injiziert und der gesamte Magen-Darminhalt zusammen aufgearbeitet. Wir erhielten mit Phosphorwolframsäure 108,6 mg eines noch bräunlichen Niederschlages, entsprechend 13,6 mg Cardiazol. Dieser Niederschlag wird mit verdünnter NaOH versetzt, mit $Ba(OH)_2$ gefällt, zentrifugiert, überschüssiges Ba mit verdünnter Schwefelsäure entfernt, zentrifugiert, filtriert, auf etwa 1,5 ccm eingeengt und mit 0,3 ccm gesättigter $HgCl_2$-Lösung versetzt. Es entsteht sofort eine z. T. kristalline Fällung. Sie bleibt über Nacht im Eisschrank und wird am anderen Morgen abgesaugt, mit wenig Wasser gewaschen und getrocknet. Es sind 10,7 mg. Schm. 175 –175,5° (Theor. 178°).

Es handelte sich also tatsächlich um Cardiazol, welches mit Phosphorwolframsäure gefällt war und nach subcutaner Injektion in den Magen-Darmtraktus ausgeschieden wurde.

Um die Identität weiter zu beweisen, haben wir nochmals einem Meerschweinchen 100 mg C. in Luminalnarkose gegeben, das Tier nach $^1/_2$ Stunde getötet und Magen, Darm usw. in üblicher Weise aufgearbeitet. Die Proben wurden zuletzt in 2 ccm Wasser aufgenommen. Herr Dr. Biehler in Ludwigshafen hatte die Liebenswürdigkeit, diese Proben mit

seiner Krampfgrenzenmethode zu untersuchen. Es wird dabei Kaninchen eine unterschwellige Dosis Cardiazol eingespritzt, durch welche noch keine Krämpfe erzeugt werden, und diese Dosis durch die zu untersuchende Lösung ergänzt; wenn Cardiazol vorhanden ist, werden dadurch Krämpfe ausgelöst. Das Versuchsergebnis von Herrn Dr. Biehler ist folgendes:

Magenwand	0,5	ccm Extrakt	> 2	mg	Cardiazol
	0,8	„ „	> 4	„	„
Mageninhalt	0,5	„ „	< 4	„	„
	0,75	„ „	< 4,5	„	„
Dünndarmwand.	0,5	„ „	> 2	„	„
	1,0	„ „	> 5	„	„
Dünndarminhalt	1,0	„ „	> 2	„	„
	0,9	„ „	< 6	„	„
Dickdarminhalt	0,5	„ „	∽ 3	„	„
	0,9	„ „	∽ 4,8	„	„

Der Nachweis im Mageninhalt ist also nicht geglückt, während sonst der Nachweis mittels der biologischen Methode sich vollkommen mit dem Ergebnis der chemischen Prüfung deckt.

Der Dickdarminhalt wurde immer mit dem Coecum verwendet. Der Nachweis von C., auch von zugesetztem, gelingt in diesem stark kolloidhaltigen Brei oder Faeces nur schlecht oder gar nicht. Wir glaubten deshalb, daß im Coecum der Meerschweinchen das Cardiazol durch bakteriellen Abbau verschwände und rechneten mit einer vermehrten Ammoniakbildung oder dem Auftreten von Hexamethylendiamin. Unsere darauf gerichteten Versuche, auf deren Beschreibung wir verzichten, waren negativ. Trotzdem wir die verschiedensten Nährböden zum Ansatz benutzten und mit Darmbakterien impften, war weder Ammoniak in vermehrter Menge, noch Hexamethylendiamin (als Kondensationsprodukte mit Phenyl- oder Naphthylisocyanat) nachweisbar. Auch in keinem Falle war die Reaktion auf Cardiazol in den Ansätzen verschwunden. Wir schließen aus diesen negativen Versuchen, daß das Cardiazol auch für die Darmbakterien unangreifbar ist. Da auch von anderer Seite gefunden wurde, daß Gewebsschnitte kein C. zerstören, können wir annehmen, daß bei parenteraler Zufuhr eine Ausscheidung in den Darm stattfindet, daß aber sehr wahrscheinlich das C. unverändert den Organismus verläßt. Wir nehmen an, daß C. sehr fest an die Darmkolloide gebunden wird und sich so dem Nachweis entzieht. Es ist nicht ausgeschlossen, mit einer besseren Extraktionstechnik die Frage vollkommen zu klären.

Zusammenfassung.

Das Cardiazol wird in den Darm ausgeschieden und verläßt den Körper mit dem Stuhl. Es wird im Stuhl so fest an die Darmkolloide gebunden, daß es nicht mehr nachweisbar ist. Es besteht zur Zeit kein Anhalt dafür, daß Cardiazol im Organismus angegriffen wird.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Greifswald.

Die Wellenlängenabhängigkeit der reduktionsbeschleunigenden Wirkung des Lichtes in der Haut*.

Von

P. Ortmann.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 26. Januar 1938.)

In einer früheren Arbeit[1] wurde an der durchströmten Schweine- und Kaninchenohrmuschel gezeigt, daß die Reduktionswirkung, welche die Keimschicht der Haut durch ihre SH-Gruppen ausübt, durch Belichtung mit der Quarzlampe wesentlich beschleunigt wird. Zum Nachweis dieser Beschleunigung dienten das Tellurit, das durch die fixen SH-Gruppen der Haut zu schwarzem metallischen Tellur reduziert wird, das gelbgrüne Dehydroindigo, das durch Reduktion zu dem tiefblauen Indigo wird, und das gelbe Nitroanthrachinon, das bei dem Reduktionsvorgang in das rotbraune Aminoanthrachinon übergeht. Es lag nun nahe, zu untersuchen, von welchem Teil des Quarzlampenlichtes die geschilderte Wirkung vorwiegend ausgeübt wird und ob sie auch dem natürlichen Sonnenlicht zukommt, dessen Spektrum ja viel weniger weit in das ultraviolette Gebiet hineinreicht. Ich habe deshalb zunächst versucht, die Wirksamkeit der einzelnen Wellenlängenbereiche des Quarzlampenlichtes durch geeignete Glasfilter gegeneinander abzugrenzen.

Zur Orientierung stellte ich zunächst einige Reagensglasversuche an. Ich mischte eine Lösung von Cystein mit einer Lösung des Stoffes, an dem ich die Reduktionswirkung nachweisen wollte. Dieses Gemisch teilte ich in vier gleiche Portionen, von denen ich drei in Quarzgläsern dem Quarzlampenlicht aussetzte, während die vierte vor den Strahlen geschützt aufbewahrt wurde. Von den bestrahlten Portionen wurde die eine von dem gesamten Licht der Quarzlampe getroffen; vor die zweite schaltete ich ein 2 mm dickes Filterglas BG 19 (Schott u. Gen., Jena), das das kurzwellige Ultraviolett unter 300 mμ abfängt; Portion 3 wurde durch das ebenso dicke Filterglas GG 13 bestrahlt, das fast nur noch sichtbares Licht hindurchtreten läßt**. Während bei dieser Versuchsanordnung die unbestrahlte Kontrolle unverändert bleibt, färben sich die bestrahlten Portionen je nach dem verwendeten Farbstoff schwarz, blau oder braunrot. Die Intensität der Färbung nimmt zwar mit zunehmender Ausschaltung der kurzwelligen Strahlen ab, aber auch die nur mit sichtbarem Licht bestrahlte Portion 3 färbt sich noch deutlich.

* Ausgeführt mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft und der Gesellschaft von Freunden und Förderern der Universität Greifswald.

** Absorptionskurven im Katalog der „Jenaer Farb- und Filtergläser für Wissenschaft und Technik" von Schott u. Gen., Jena (Liste 4777 und Nachtrag 5990).

[1] Ortmann, P.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 12 (1938).

Die Durchströmung der Schweineohren wurde wie in der ersten Arbeit[1] durchgeführt. Bestrahlt wurde immer ein 2 cm breiter, quer über das Ohr verlaufender Streifen. Von diesem Streifen wurde ein Drittel von dem gesamten Licht der Quarzlampe getroffen, das zweite Drittel, das mit dem Filter BG 19 bedeckt wurde, nur von den langwelligen ultravioletten und den sichtbaren Strahlen, das letzte Drittel durch das Filter GG 13 nur von sichtbarem Licht. Die Bestrahlungszeit betrug $^1/_2$—2 Stunden.

Ähnlich wie in den Vorversuchen mit Cystein zeigte sich dabei, daß zwar das kurzwellige Ultraviolett die in der Haut ablaufenden Reduktions-

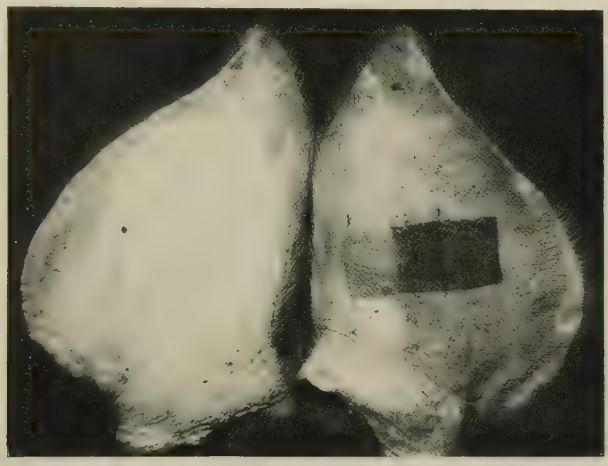


Abb. 1. Schweineohr. Links: mit Ringer durchströmt; rechts: mit Ringer-Nitroanthrachinon durchströmt. Der dunkle Streifen wurde mit der Quarzlampe bestrahlt. Dabei wurde die Mitte von allen Strahlen getroffen, das laterale Drittel von langwelligem ultravioletten und sichtbarem Licht, das mediale Drittel nur von sichtbarem Licht.

vorgänge am stärksten beschleunigt, daß aber auch das langwellige Ultraviolett und sogar das sichtbare Licht eine deutliche Reduktionsbeschleunigung bewirken. Die Farbtiefe ist also an der vom Gesamtlicht der Quarzlampe getroffenen Hautstelle am stärksten, weniger stark dort, wo das kurzwellige Ultraviolett ausgeschaltet worden ist, und am schwächsten, wo nur sichtbares Licht die Haut trifft. Doch hebt sich auch in letzterem Bereich die entstandene Farbe noch deutlich von der unbestrahlten Umgebung ab (Abbildung). Das gilt für alle drei verwendeten Farbstoffe in gleicher Weise. Die eindrucksvollsten Bilder liefert jedoch das Nitroanthrachinon, da es wegen seiner verhältnismäßig langsam verlaufenden Reduktion zu Aminoanthrachinon Unterschiede in der Reduktionsbeschleunigung durch Licht besonders deutlich erkennen läßt.

In ähnlicher Weise habe ich auch die Wirkung des natürlichen Sonnenlichtes untersucht.

Zunächst stellte ich wieder Vorversuche mit Cystein an. Dabei verwendete ich folgende Filterkombinationen: BG 12 + GG 13, durch die nur die Strahlen zwischen 375 und 500 mμ (violett und indigo) hindurchdringen, VG 9 + BG 17, die nur Strahlen zwischen 470 und 600 mμ (blau, grün und gelb) hindurchtreten lassen, und endlich RG 1 + BG 17 für den Bereich von 600—1000 mμ (orange, rot und infrarot). Die Bestrahlungszeit betrug bei Herbstsonne (September) $^1/_2$—3 Stunden. Hierbei ergab sich, wie es nach den Versuchen mit gefiltertem Quarzlampenlicht zu erwarten war, daß auch das Sonnenlicht imstande ist, die Reduktionswirkung der SH-Gruppe zu beschleunigen. In allen bestrahlten Portionen entstanden die für die Reduktionsform des benutzten Stoffes charakteristischen Färbungen, wobei die Farbintensität wieder mit zunehmender Wellenlänge abnahm, doch war in jedem Falle auch die nur von Strahlen über 600 mμ getroffene Portion dunkler gefärbt als die unbestrahlte Kontrolle.

Die gleichen Filterkombinationen benutzte ich bei den Versuchen, die ich mit dem Sonnenlicht am durchströmten Schweineohr vornahm. Ich bestrahlte $^1/_2$—2 Stunden lang einen kreisrunden Hautbezirk, den ich in vier Quadranten einteilte. Von diesen wurde einer von dem gesamten Sonnenlicht getroffen. Auf die drei übrigen fielen durch die genannten Filter nur die Strahlen zwischen 375—500, 470—600 und 600—1000 mμ.

Die Versuche zeigten, daß das natürliche Sonnenlicht wie im Modellversuch mit Cystein auch die in der Haut ablaufenden Reduktionsvorgänge stark beschleunigt; allerdings ließ sich hier die Wirkung des langwelligen Anteiles des sichtbaren Lichtes nicht mehr nachweisen. Der von allen Sonnenstrahlen getroffene Quadrant war in jedem Falle deutlich schwarz, blau oder rotbraun gefärbt. Auch in dem von den Strahlen zwischen 375 und 500 mμ (violett und indigo) getroffenen Bezirk war der benutzte Farbstoff jedesmal, wenn auch wenigers stark, so doch deutlich reduziert worden. Dagegen hoben sich die beiden letzten Quadranten, die nur Strahlen über 500 mμ aufgefangen hatten, niemals von der unbestrahlten Umgebung ab. Die reduktionsbeschleunigende Wirkung des Sonnenlichtes kommt also nur dem ultravioletten und dem kurzwelligen sichtbaren Anteil zu. Dabei ist aber zu beachten, daß die Versuche mit Herbstsonne angestellt wurden. Vielleicht würde bei stärkerer Sonnenstrahlung im Hochsommer auch an der Haut ein weiteres Hineinreichen der Reduktionswirkung in den langwelligen Teil des sichtbaren Lichtes bemerkbar werden.

Zusammenfassung.

Am durchströmten Schweineohr wird mit Hilfe des Natriumtellurits, des Dehydroindigo und des Nitroanthrachinons gezeigt, daß nicht nur das Quarzlampenlicht, sondern auch das natürliche Sonnenlicht imstande sind, die in der Haut ablaufenden Reduktionsvorgänge zu beschleunigen. Diese Wirkung wird sowohl von den ultravioletten als auch von den sichtbaren Strahlen ausgeübt; sie nimmt aber mit zunehmender Wellenlänge rasch ab.

Institut für pharmakologische Chemie der Universität zu Neapel.

Über den Einfluß des Broms auf die physikalisch-chemischen Konstanten des Blutes und auf Arneths Kernschema.

Von

Prof. Dr. Antonio Risi.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 20. Oktober 1938.)

In der Literatur finden sich meines Wissens bisher keine vollständigen und exakten Untersuchungen über die Wirkung der Haloidsalze, insbesondere des Bromnatriums, auf die physikalisch-chemischen Konstanten des Blutes. Mit Ausnahme der Arbeiten von Simon[1] und seiner Schule, über die Eigenschaften einiger Anionen die Viskosität des Wassers und des Blutserums in vitro und des Blutes in vivo herabzusetzen, besitzen wir keine andere Angabe darüber. Diese Frage aufzulösen, schien mir deshalb von Wert.

Es sei zunächst daran erinnert, daß Bromion im Blute das Chlorion zu ersetzen vermag[2] und daß tägliche Bromgaben schließlich zum Büchnerschen Bromgleichgewicht zwischen Resorption und Ausscheidung führen[3]. Aber das Bromnatrium ersetzt teilweise das Chlornatrium im kreisenden Blute, und die Ersetzung erfolgt auch für das in Verbindung mit den protoplasmatischen organischen Molekeln sich befindende Natriumchlorid.

In Anbetracht der Elektrolytenwirkung des NaCl auf den osmotischen Druck schien es logisch anzunehmen, daß auch die Bromide die physikalisch-chemischen Eigenschaften des Blutes beeinflussen würden. Die vorliegende Arbeit setzt damit jene Untersuchungen über die Halogenverbindungen fort, die bereits von Chistoni[4] über das Jod (Jodipin, Sajodin, Jodkalium) durchgeführt worden sind.

Außer den physikalisch-chemischen Konstanten des Blutes habe ich auch die Lobulation der Neutrophilen unter dem Einflusse der physikalisch-chemischen Umweltsbedingungen nach Arneths Kernschema untersucht.

Technik. Die Untersuchungen wurden sowohl am defibrinierten Blute als auch am Blutserum großer kräftiger Hunde durchgeführt, die stets zu derselben Zeit Brot und Wasser als Nahrung erhielten.

---

[1] I. Simon: Arch. Farmacol. L (3), 64 (1929); Arch. intern. Pharm. Thér. XXXIII (1), 61 (1927). — [2] Pflamner: Dissert. Erlangen 1895. — [3] Büchner: Dissert. Würzburg 1899. — [4] A. Chistoni: Arch. Fisiol. VIII (1910).

Das Blut, etwa 20 ccm, wurde immer zu derselben Stunde direkt dem Herzen entnommen. Einen Teil davon defibrinierte man sofort mit Glaskügelchen, während man den anderen Teil zentrifugierte, um ein reines durchsichtiges Serum zu erhalten. Am Blut wurden die Bestimmungen sofort an dem im Eisschrank konservierten Serum am folgenden Tage ausgeführt. Ich habe jedesmal die unmittelbare Entnahme an ruhigen Tieren bevorzugt, gerade um mich im voraus gegen die störenden Ursachen zu sichern, die vom Aderlaß der Femoralis und der Carotis abhängig sind, denn die wiederholten Aderlässe führen öfters zu örtlichen nekrobiotischen Vorgängen, daher zu hämohistologischen Veränderungen. Ich benutzte eine unbedingt erforderliche zweckmäßige Blutmenge, um den Störungen auf das physikalisch-chemische Gleichgewicht vorzubeugen, die den überflüssigen Blutentziehungen folgen.

Sämtlichen Bestimmungen ging das Abwiegen der Tiere voran. Die Tiere erhielten peroral 1 g NaBr in 20 g Wasser gelöst, zur angegebenen Stunde, gleichzeitig mit der ersten Blutentnahme, um die normalen Werte aller Bestimmungen (Kryoskopie, Viskosität, elektrische Leitfähigkeit, oberflächliche Spannung, refraktometrischer Index) ermitteln zu können, nebst der cytomorphologischen Blutprüfung und der Feststellung von Arneths Lobulärschema. Jede der in den Tabellen angegebenen Zahl entspricht dem Mittelwert von mindestens drei Bestimmungen mit ungefähr gleichem Index. Zur Ermittlung des osmotischen Druckes, als kryoskopischer Δ-Wert ausgedrückt, bediente ich mich des Beckmannschen Apparates. Die Kältemischung (Eis — Kochsalz) besaß beinahe $4-5^0$ Temperatur. Die Viskosität bei 37^0 Temperatur und mit gleichem Inhalt an Blut und Serum, wurde mit dem vertikalen Kapillarviskosimeter von Ostwald bestimmt und nach Mayers Formel berechnet ($H = t \cdot t\,H_2O$).

Die spezifische elektrische Leitfähigkeit bestimmte man nach Kohlrauschs Methode mit Hilfe der Ostwaldschen Zelle. Die Oberflächenspannung des Serums und des defibrinierten Blutes wurde mit Traubes Stalagmometer tropfenweise gemessen: γ entsprach 43 und 7 Tropfen destillierten Wassers bei 20^0 Temperatur. Zur Feststellung des refraktometrischen Index bediente ich mich des Pulfrichschen Apparates mit durchsichtigem Serum. Der Prozentsatz des Albumins wurde an Hand der Keissschen Tabelle eruiert. Zur Zählung der roten und weißen Blutkörperchen diente das Hämocytometer nach Thoma-Zeiss. Ich erhielt Arneths Kernschema bei Zählung von mindestens 100 neutrophilen Leukocyten auf einem Strichpräparat, das in Methylalkohol fixiert und nach Gimsa-Romanowsky gefärbt war. Bei letzteren Untersuchungen folgte ich Di Maccos Abänderungen zu Wolffs und V. Bonsdorffs Methode und berechnete, neben dem totalen Lobulärindex (Sabrazès), auch den linken Kernindex mit dem Wert, welcher der Summe der Leukocyten mit 3 und 4 Kernen entsprach.

Tabelle 1. Versuch 1: Hund von 12,900 kg.

Datum	Dargereichte NaBr-Gabe	Geprüfte Substanz	Kryoskopischer Index Δ	Viskositätskoeffizient $\eta \cdot 37^0$	Spezifische elektrische Leitfähigkeit $\lambda\ 20^0$	Oberflächenspannung γ 20′ (Tropfen)	Refraktometr. Index η 17,5° C	Albumin %	Bemerkungen
6. X. 1937	—	Blut	0,590°	3,795		49			
		Serum	0,590	1,704	$11{,}8 \cdot 10^{-3}$	48	1,34873	7,42	normal
Nach 1 Stunde	1 g NaBr + 20 ccm H_2O	Blut	0,632°	3,472		49			
		Serum	0,628	1,591	$12{,}1 \cdot 10^{-3}$	48	1,34947	7,85	
Nach 2 Stunden	Dasselbe	Blut	0,615	3,475		49			
		Serum	0,614	1,491	$11{,}9 \cdot 10^{-3}$	48	1,34947	7,85	
Nach 3 Stunden	„	Blut	0,600	3,770		49			
		Serum	0,590	1,701	$11{,}7 \cdot 10^{-3}$	48	1,34836	7,90	
Nach 5 Stunden	„	Blut	0,590	3,795		49			
		Serum	0,590	1,704	$11{,}8 \cdot 10^{-3}$	48	1,34612	5,90	

Tabelle 2. Versuch 2: Hund von 13,100 kg.

Datum	Dargereichte NaBr-Gabe	Geprüfte Substanz	Kryoskopischer Index Δ	Viskositätskoeffizient $\eta \cdot 37^0$	Spezifische elektrische Leitfähigkeit $\lambda\ 20^0$	Oberflächenspannung γ 20′ (Tropfen)	Refraktometr. Index η 17,5° C	Albumin %	Bemerkungen
5. XI. 1937	—	Blut	0,590°	3,560		49			
		Serum	0,590	1,430	$11{,}8 \cdot 10^{-3}$	48	1,34672	5,90	normal
Nach 1 Stunde	1 g NaBr + 20 ccm H_2O	Blut	0,638°	3,225		49			
		Serum	0,636	1,190	$12{,}4 \cdot 10^{-3}$	48	1,34687	6,34	
Nach 2 Stunden	Dasselbe	Blut	0,620	3,100		49			
		Serum	0,612	1,050	$11{,}7 \cdot 10^{-3}$	48	1,34650	6,12	
Nach 3 Stunden	„	Blut	0,608	3,500		49			
		Serum	0,590	1,430	$11{,}8 \cdot 10^{-3}$	48	1,34650	6,12	
Nach 5 Stunden	„	Blut	0,590	3,560		49			
		Serum	0,590	1,430	$11{,}8 \cdot 10^{-3}$	48	1,34612	5,90	

Tabelle 3. Versuch 3: Hund von 11,900 kg.

Datum	Dargereichte Na Br-Gabe	Geprüfte Substanz	Kryoskopischer Index Δ	Viskositäts-koeffizient $\eta \cdot 37^0$	Spezifische elektrische Leitfähigkeit $\lambda\ 20^0$	Oberflächen-spannung γ 20° (Tropfen)	Refraktometr. Index η 17,50 C	Albumin %	Bemerkungen
3. XII. 1937	—	Blut	0,590°	3,580	$11{,}8 \cdot 10^{-3}$	49	1,34836	7,20	normal
		Serum	0,590	1,485		48			
Nach 1 Stunde	1 g Na Br + 20 ccm H_2O	Blut	0,640°	3,421	$12{,}5 \cdot 10^{-3}$	49	1,34873	7,42	
		Serum	0,637	1,221		48			
Nach 2 Stunden	Dasselbe	Blut	0,625	3,490	$11{,}5 \cdot 10^{-3}$	49	1,34873	7,42	
		Serum	0,611	1,415		48			
Nach 3 Stunden	„	Blut	0,600	3,500	$11{,}8 \cdot 10^{-3}$	49	1,34836	7,20	
		Serum	0,590	1,485		48			
Nach 5 Stunden	„	Blut	0,590	3,580	$11{,}8 \cdot 10^{-3}$	49	1,34650	6,12	
		Serum	0,590	1,485		48			

Ich entnahm die erforderlichen Blutproben vor der Na Br-Darreichung, um den Normalwert aller Bestimmungen ermitteln zu können, welche in Abständen von 6 Tagen sich verwirklichten. Hingegen für Arneths Schema wurden die Untersuchungen täglich eine Stunde nach der Einverleibung des Mittels durchgeführt.

Aus den Werten der Tabelle 1, die sich auf Versuch 1 bezieht, geht hervor, daß die physikalisch-chemischen Konstanten des Serums und des Blutes unter dem Einfluß des Na Br Veränderungen erleiden, die sich folgendermaßen zusammenfassen lassen:

a) Leichter Anstieg des osmotischen Druckes von Blut und Serum;

b) Herabsetzung der Viskosität (Blut und Serum);

c) Zunahme der spezifischen elektrischen Leitfähigkeit;

d) Beharrlichkeit der Oberflächenspannung;

e) Anstieg in der ersten Zeit des refraktometrischen Index, darauf Abnahme unter die Norm.

Ich will hierzu bemerken, daß diese Veränderungen sich für einige Zeit bewahrt haben und daß der Hund keinen Gewichtswechsel während der ganzen Versuchsperiode gezeigt hat; das Tier hat stets die tägliche Bromdosis gut vertragen.

Die Zahlen des zweiten Versuchs in Tabelle 2 entsprechen genau denen des vorigen und bestätigen somit die Tatsache, daß die Na Br-Wirkung auf einem leichten Anstieg der molekulären Konzentration (Blut

und Serum) und der elektrischen Leitfähigkeit beruht, ferner auf einer Abnahme der Viskosität und des refraktometrischen Index, auf einer Unveränderlichkeit der oberflächlichen Spannung. Wie im vorigen Versuch zeigte das Tier weder Intoleranz gegenüber dem Bromsalz noch Änderungen des Körpergewichts.

Aus der Prüfung der in Tabelle 3 eingetragenen Werte geht hervor, daß auch in diesem Versuch das Brommatrium, peroral und in den üblichen Dosen dargereicht, beständige Veränderungen der physikalisch-chemischen Eigenschaften des Blutes aufweist: leichten Anstieg des osmotischen Druckes und der spezifischen elektrischen Leitfähigkeit, Abnahme der Viskosität und des refraktometrischen Index, Unveränderlichkeit der Oberflächenspannung. Somit stimmen die Ergebnisse aller drei Versuche vollständig überein.

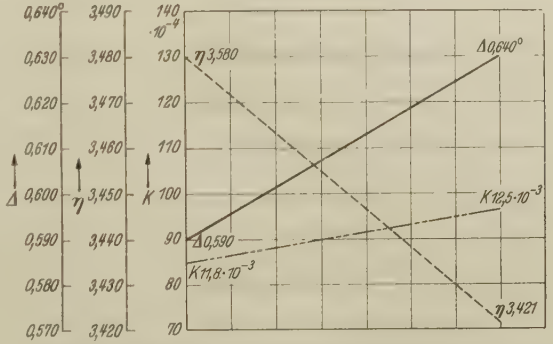


Abb. 1 (Versuch 3). Defibriniertes Blut des Hundes nach Na Br-Wirkung.

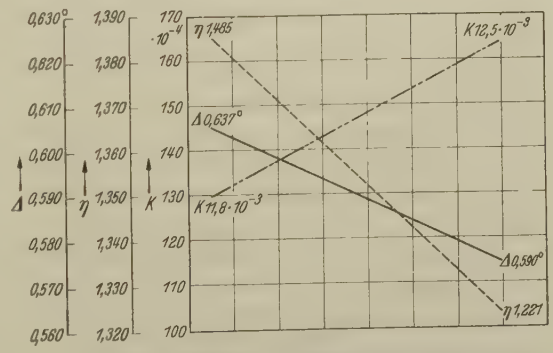


Abb. 2 (Versuch 3). Blutserum des Hundes nach Na Br-Wirkung.

Als Ergänzung und Erläuterung des Gesagten bringe ich noch einige Diagramme, aus denen der Einfluß des Na Br auf die physikalisch-chemischen Konstanten des Blutes und des Serums deutlich hervorgeht.

Bedeutung der durch Na Br herbeigeführten Änderungen der Blutkonstanten.

Osmotischer Druck. Die molekularen Konzentrationen folgen, wie aus den Tabellenergebnissen hervorgeht, in parallelen Kurven den Werten des kryoskopischen Index. Diese erheben sich um einige Tausendstel Grade über den Gefrierpunkt, was sich durch Retention osmotisch aktiver Molekeln infolge der Na Br-Wirkung erklärt.

Die Ergebnisse entfernen sich von denen Chistonis über das Jod, da er Veränderungen weder im Blute noch im Serum beobachtete, nähern

sich aber den Resultaten, welche Chistoni selbst in seinen Versuchen mit NaJ, NaBr, NaCl auf die Lymphe erzielte. Auch dort kam es zu einer leichten Zunahme des kryoskopischen Index.

Viskosität des defibrinierten Blutes und des Serums. In sämtlichen Versuchen fand sich eine konstante Herabsetzung der Viskosität, was in voller Übereinstimmung mit den Ergebnissen von Chistoni (Jodversuche) steht. Chistonis analoge Versuche an der Lymphe ergaben, daß NaBr die Viskosität zunächst herabsetzt, nachher jedoch steigert.

Spezifische elektrische Leitungsfähigkeit. Aus sämtlichen Versuchen ergab sich eine Zunahme der spezifischen elektrischen Leitfähigkeit des Blutes und des Serums. Diesen Veränderungen entsprach eine Herabsetzung der Viskosität. Die Ergebnisse stimmen mit Chistonis Resultaten über die experimentelle Lymphorrhoe nach Einspritzungen von NaBr-Lösungen überein; dieser Forscher fand einen fortschreitenden Anstieg des λ nicht nur während der Versuchszeit, sondern auch zu Ende der Beobachtungen. Diese Tatsache steht auch in Einklang mit den Ergebnissen über Jodnatrium (Chistoni) hinsichtlich des defibrinierten Blutes.

Oberflächenspannung. Bekanntlich steht die Oberflächenspannung einer Flüssigkeit in direktem Verhältnis mit dem Volumen des Tropfens und ist umgekehrt proportional der in einer bestimmten Flüssigkeitsmenge enthaltenen Tropfen. Mit dem Viskostagonometer mißt man eben, bei Zimmertemperatur, den Umfang des Tropfens, der sich von der Bildungsfläche der Flüssigkeit abtrennt, und die Zahl der Tropfen in Vergleich mit destilliertem Wasser.

Mit dieser Methode bestimmt man die Potentialkraft, die an der Oberfläche der Flüssigkeiten anwesend ist und sich, nach physikalischem Gesetz, jeder Kraft entgegenstellt, wenn diese die Oberfläche selbst zu vergrößern sucht.

Nun bleiben die in den organischen Flüssigkeiten gelösten Substanzen gegenüber dem Kraftpotentialindex nicht unwirksam, vielmehr beeinflussen sie das organische System (lebendes Zellplasma), so daß quantitative Veränderungen in bezug auf das gestörte physikalisch-chemische Gleichgewicht entstehen.

Die in den Tabellen 1, 2 und 3 eingetragenen Ergebnisse weisen unter dem Einfluß des Bromsalzes keine Veränderungen der Oberflächenspannung auf, ein Beweis, daß letztere nach Einverleibung des NaBr stationär bleibt, was auf den ersten Blick nicht der Fall zu sein schien.

Refraktometrischer Index. Die Schwankungen des refraktometrischen Index, und zwar erst Zu-, dann Abnahme, erklären sich vielleicht durch einen inkonstanten Gehalt des Serums an Proteinsubstanzen unter dem Einfluß des NaBr.

Zum Verständnis des innerlichen Mechanismus der beobachteten Vorgänge will ich mich auf die komplizierten Faktoren berufen, die

zwischen anatomischen Elementen und Blut eintreten, ferner zwischen Blut und Gewebe bei den bezüglichen Ionenaustauschen, zwischen Zellen und Flüssigkeiten, die mit osmotischen Veränderungen verknüpft sind und den Übergang der Ionen in den Kreislaufstrom und überhaupt in die Organsäfte begünstigen oder hindern.

Es sind, nach Bottazzi, Bildungs- und Zersetzungsvorgänge von salinisch-proteischen Verbindungen, chemische Gleichgewichtsverlegungen zwischen löslichen Zellbildnern und deren unlöslichen Produkten, es ist die größere oder geringere elektrolytische Dissoziation des NaCl, auf das Volumen des Lösungsmittels bezogen. Auf diesen Begriffen finden wir größtenteils die Grundlage für die Erklärung einiger Wechselbeziehungen zwischen den physikalisch-chemischen Konstanten.

So läßt sich in unserem Falle die Herabsetzung der Viskosität durch die Anwesenheit im Blute winziger NaBr-Kristalloide erläutern, welche nach Albanese[5], Fano und Rossi[6] hinreichend das $^1/_4$ des Plasmas und des Serums zu erniedrigen, in derselben Weise wie in vitro sehr geringe NaCl-Mengen wirken, wenn sie einer organischen Kolloidlösung hinzugesetzt werden. Nur als mitwirkende Ursache schreibe ich der korpuskulären Elastizität der geformten Blutelemente eine billige Bedeutung zu, da diese Zellen, bei Umgestaltung ihrer Form, mit Leichtigkeit in die interglobularen und kapillaren Lücken einzudringen gelingen.

Die Oberflächenspannung kann unter dem Einfluß von Elektrolyten zu- oder abnehmen, während sie durch Anelektrolyte stets herabgesetzt wird. Tatsächlich, nach dem von Hamburger bestätigten Gesetz von Arrhenius, bewirkt eine Vermehrung der Proteinsubstanzen (Nichtelektrolyte) eine Herabsetzung der Leitfähigkeit der Elektrolyte, sei es durch Verzögerung der Ionenwanderung, sei es durch Verminderung des Dissoziationsgrades derselben.

Auch der osmotische Druck verschiebt sich in dem einen oder anderen Sinne bei Anwesenheit einer größeren oder geringeren Menge osmotisch aktiver, durch die Nieren noch nicht ausgeschiedener Molekeln.

Die elektrische Leitfähigkeit schließlich nimmt gleichfalls zu oder ab, wenn in den Körperflüssigkeiten die Mobilisierung der Ionen anorganischer Substanzen (Chlornatrium, kohlensaures Natrium, die Alkalien im allgemeinen) gesteigert bzw. herabgesetzt wird.

Untersuchungen über Arneths Kernschema.

Verschiedene bedeutende Untersuchungen wurden über die Determination von Arneths Lobularschema ausgeführt, infolge der Einverleibung besonderer Stoffe in den Tierkörper; sie stehen aber in keinem unmittelbaren Zusammenhang mit meinen Versuchen. Ohne in eine

[5] Albanese: Arch. Farm. Ter. (1906); Arch. Ital. Biol. (1908). — [6] Fano u. Rossi: Arch. Ital. Fisiol. I, 492 (1904).

Besprechung über die richtige Bedeutung der Lobulation einzugehen, was schon festbegründet ist und die Grenzen meines Gegenstandes überschreiten würde, war meine Absicht aufzuklären, ob die physikalisch-chemischen Bedingungen der Umwelt, die einige Forscher verantwortlich machen, als notwendige Ursachen mitwirken, um Arneths Kernschema abzuändern.

Zu diesem Zwecke bediente ich mich derselben Tiere, an denen bereits die Wirkung des Natriumbromids auf die physikalisch-chemischen Konstanten des Serums und des Blutes festgestellt worden war; die Ergebnisse sind in den nachfolgenden Tabellen zusammengestellt.

Versuch 1. (Tabelle 4).

Hund von 12,900 kg wird für zwei Tage einer gleichmäßigen Diät unterworfen. Es wird zunächst die Blutprobe für die Ermittlung der normalen Kernverhältnisse entnommen; sodann zu vorgeschriebenen Stunden und nach Verabreichung des NaBr schritt ich zu weiteren Entnahmen. Die Menge der jedesmal peroral dargereichten Substanz entsprach einer 5%igen Lösung, und zwar 1 g NaBr in 20 ccm Wasser.

Tabelle 4.

Datum der Blutentnahme	NaBr-Darreichung	Erythrocyten	Leukocyten	Granulocytenzahl — Kern										Linker leukocyt. Index	Totaler lobulärer Index
				3 lappig	Mittelwert	4 lappig	Mittelwert	5 lappig	Mittelwert	6 lappig	Mittelwert	7 lappig	Mittelwert		
2. X. 1937	—	6 125 000	13 280	8	9	32	31	36	36	20	20	5	5	40	486
3. X. 1937	—	6 080 000	14 000	10		30		36		21		6			
9. X. 1937	1 g nach 1 Std.	7 085 000	33 593	14		39		32		12		2		53	444
15. X. 1937	dasselbe	6 400 000	28 278	15		40		32		11		2		55	445
21. X. 1937	„	6 207 000	17 000	15		41		29		13		2		56	446
27. X. 1937	„	6 200 000	15 000	16		40		30		12		2		56	444

Aus dem Versuch geht hervor, daß 1 g NaBr pro die peroral dargereicht eine Zunahme der wenig gelappten neutrophilen Granulocyten bewirkt, was zu einer Linksverschiebung des leukocytären Index führt. Ebenso weist eine Zunahme sowohl die Serie der roten, als auch die der weißen Blutkörperchen auf, jedoch nur anfänglich, während der ersten 10 Tage; nachher kommt es in der 3.—4. Woche zu einer Rückkehr zur Norm, trotz fortdauernder Bromgaben.

Versuch 2 (Tabelle 5).

Hund von 13,100 kg wird unter gleichen Bedingungen gehalten wie in Versuch 1 und erhält immer in gleichen Zeitabständen dieselbe Dosis NaBr peroral. Eine Stunde nach Verabreichung der Substanz erfolgte die Blutentnahme aus dem Ohrlappen.

Bei gleicher täglicher Bromnatriumgabe ist die Zunahme der wenig gelappten Kerne etwa dieselbe wie im vorausgehenden Versuch. Auch die

Tabelle 5.

Datum der Blutentnahme	NaBr-Darreichung	Erythrocyten	Leukocyten	Granulocytenzahl — Kern										Linker leukocyt. Index	Totaler lobulärer Index
				3lappig	Mittelwert	4lappig	Mittelwert	5lappig	Mittelwert	6lappig	Mittelwert	7lappig	Mittelwert		
3. X. 1937	—	5 750 000	11 000	10	9	23	25	45	45	17	17	4	4	34	482
4. X. 1937	—	5 810 000	11 230	8		26		45		17		4			
9. X. 1937	1 g nach 1 Std.	6 700 000	25 000	18		34		33		12		3		52	448
14. X. 1937	dasselbe	6 000 000	17 100	17		36		32		13		2		53	447
19. X. 1937	„	3 890 000	13 250	16		36		32		13		3		52	451
24. X. 1937	„	5 895 000	11 200	16		37		38		12		2		53	447

roten und weißen Blutkörperchen folgen der gleichen Kurve. Wie der leukocytäre Index zeigt, kommt es zu einer Linksverschiebung des Kernschemas.

Versuch 3 (Tabelle 6).

Hund von 11.900 kg erhält in gleicher Weise wie in den vorigen Versuchen 1 und 2 NaBr peroral.

Tabelle 6.

Datum der Blutentnahme	NaBr-Darreichung	Erythrocyten	Leukocyten	Granulocytenzahl — Kern										Linker leukocyt. Index	Totaler lobulärer Index
				3lappig	Mittelwert	4lappig	Mittelwert	5lappig	Mittelwert	6lappig	Mittelwert	7lappig	Mittelwert		
1. X. 1937	—	5 900 000	11 800	11	11	27	27	46	45	12	13	5	4	38	472
2. X. 1937	—	5 987 000	11 790	12		28		45		15		4			
7. X. 1937	1 g nach 1 Std.	7 000 500	27 000	19		30		36		11		4		49	451
12. X. 1937	dasselbe	6 210 000	19 210	20		36		31		11		2		56	451
17. X. 1937	„	6 025 000	12 000	18		30		33		11		3		48	466
23. X. 1937	„	6 000 000	12 025	18		39		30		11		3		57	457

Die Vermehrung der wenig gelappten neutrophilen Granulocyten im kreisenden Blut wird durch die Ergebnisse dieses dritten Versuches bestätigt. Das Verhalten der roten und weißen Blutkörperchen erfährt keine Veränderung, denn letztere weisen dieselben Schwankungen auf, wie in beiden obigen Experimenten. Das Lobularschema von Arneth wird daher nach links verschoben, und da die Variationen konstant sind, muß dem NaBr eine wesentliche Beeinflussung auf dasselbe zugeschrieben werden. Ich will noch hervorheben, daß die Kernveränderungen nur kurze Zeit anhalten.

In Anbetracht der Eindeutigkeit der Ergebnisse wird auf die Wiedergabe weiterer Versuche verzichtet.

Folgendes Diagramm erläutert in einleuchtender Weise die angegebene Kernverschiebung.

Zum Verständnis der Erscheinung kann eine gesteigerte Blutbildungstätigkeit angenommen werden, wodurch Jugendformen der neutrophilen Granulocyten in den Kreislauf gelangen, deren Kernsegmentation (Lappenbildung) nach Arneth [7] und seiner Schule das Alter der Zelle bezeichnet. Wenn auch diese Annahme den belehrenden Gedanken der meisten Forscher, deren Ansichten über den Wert selbst des Kernschemas weit auseinandergehen, nicht unterstützt, so kann doch, ihnen nachfolgend, ein amöboider Zellpolymorphismus festgestellt werden, welcher allerdings in den von mir angeführten Versuchen gesteigert und nach links verschoben sich erweist.

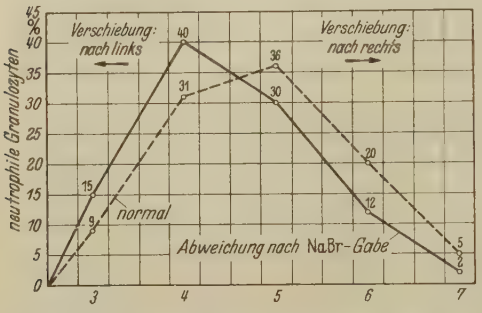


Abb. 3. Arneths Kernschema unter dem Einflusse von 1 g NaBr 1 Stunde nach der Verabreichung (siehe Tabelle 4).

Schlußfolgerungen.

1. In Versuchen an Hunden, die täglich peroral 1 g NaBr erhielten, konnten Veränderungen der physikalisch-chemischen Konstanten des Serums und des defibrinierten Blutes beobachtet werden. Diese äußerten sich in einer geringen Zunahme des osmotischen Druckes und der spezifischen elektrischen Leitungsfähigkeit, sowie in einer konstanten Herabsetzung der Viskosität (Blut und Serum) und des refraktometrischen Index. Die Oberflächenspannung blieb unverändert.

Die Tiere wiesen während der ganzen Versuchszeit keinerlei Intoleranzzeichen auf und auch Gewichtsschwankungen blieben aus.

2. Die Zahl aller Blutzellen ließ unter dem Einflusse des NaBr eine Zunahme erkennen, und zwar in Form einer mäßigen Hyperglobulie und einer einleitenden, vorübergehenden Leukocytose. Es zeigte sich aber eine rasche Rückkehr zu den normalen Werten, ohne daß diese Veränderungen irgendwelche Beziehungen zu den beschriebenen Variationen der physikalisch-chemischen Konstanten übernommen hatten.

3. NaBr übt einen Einfluß auf die Kernlobulation der neutrophilen Leukocyten, indem die Anzahl der Serien mit 3 und 4 Kernläppchen mit beständigem Rhythmus zunimmt und der leukocytäre Index, bei Arneths Formel, eine Linksverschiebung erfährt.

[7] J. Arneth: Die qualitative Blutlehre. Leipzig 1920.

Aus der II. Medizinischen Universitäts-Klinik der Charité in Berlin
(Direktor: Prof. Dr. G. von Bergmann).

Sauerstoffverbrauch und Wirkungsgrad des insuffizienten Herzens. Methodische Fragen.

(Zugleich eine Erwiderung auf die Arbeit von M. B. Visscher*).

Von

A. Rühl.

(Eingegangen am 10. Februar 1939)

Die große Bedeutung, welche die Kenntnis der Stoffwechselvorgänge des insuffizienten Herzens sowohl für pharmakologische, wie für klinische Problemstellungen hat, läßt es verstehen, daß die Diskussion über dieses Fragengebiet nicht abreißt. Sie ist dadurch entstanden, daß von verschiedenen Untersuchern mit verschiedenen Methoden sehr unterschiedliche Ergebnisse erzielt worden sind. Eine neuerliche Klarstellung methodischer Fragen ist notwendig geworden, nachdem vor kurzem durch M. B. Visscher[1] in diesem Archiv Methoden und Ergebnisse unserer eigenen früheren Arbeiten[2, 3] in Zweifel gestellt worden sind**.

1. Die Bestimmung des Sauerstoffverbrauchs des Herzens am Herz-Lungen-Präparat (H. L. P.).

Die zwei Methoden, unter denen unterschieden werden muß, sind 1. die sogenannte „external method", die „klassische" Bestimmung des O_2-Verbrauchs des ganzen H.L.P. nach Starling und Visscher[4], verwendet vor allem von Gremels[5] und anderen (nicht verwendet von Gollwitzer-Meier[6], wie Visscher[1] fälschlich annimmt). Bestimmt wird Sauerstoffverbrauch von Herz und Lunge, der Sauerstoffverbrauch des Herzens errechnet sich nach Abzug der Korrektur für den Lungenstoffwechsel.

Die zweite Methode, die sogenannte „internal method" beruht auf dem Prinzip, aus Coronardurchblutung und arteriovenöser O_2- bzw. CO_2 Differenz den Sauerstoffverbrauch und die Kohlensäureabgabe des Herzens zu berechnen. Sie wurde angegeben von Evans und Starling[7] und sowohl von Gollwitzer-Meier[6] wie in unseren eigenen Versuchen[2, 3, 8, 9] verwendet; gegen sie richtet sich die jetzige Kritik von Visscher[1], sowie schon früher von Gremels[5, 10].

---

* Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 266 (1938).

** Die Arbeit von Visscher wurde mir durch ein Versehen der Schriftleitung erst mit der Veröffentlichung bekannt.

Der Haupteinwand gegen die „internal method" betrifft die Größe der Coronardurchblutung. Da mit der Morawitz-Kanüle nur der Ausfluß aus dem Sinus coronarius erfaßt werden kann, ist für die Anwendung der Methode ausschlaggebend, ob der so gemessene Coronarausfluß auch unter den Bedingungen der experimentellen Herzinsuffizienz stets einen aliquoten Teil der gesamten Coronardurchblutung darstellt.

Nachdem schon Evans und Starling[7] diese Konstanz mit 60% der gesamten Coronardurchblutung für alle beliebigen Änderungen des coronaren Blutstroms festgestellt hatten, wurde sie weiterhin durch die elegante Methode der Exterritorialisierung der Coronardurchblutung durch gesonderte Durchblutung der Coronararterien von Anrep, Blalock und Hammouda[11] entscheidend bestätigt.

In 95% ihrer Untersuchungen betrug der Sinusausfluß zwischen 60 und 67% der gesamten Coronardurchblutung (äußerste Grenzen 48 und 71%). Änderung der Herzleistung durch Steigerung des Minutenvolumens oder des Widerstands in den Grenzen unserer eigenen Versuche ließen den Sinusanteil völlig konstant. Dasselbe Ergebnis blieb bestehen bei Vorhofflimmern (!), nach Adrenalin, nach Pituitrin. Nur bei exzessiver Dilatation wie sie bei hoher Druckbelastung des insuffizienten Herzens, bei Überfüllung des stillstehenden oder flimmernden Herzens einsetzt, fließt relativ zu wenig Blut aus der Morawitz-Kanüle. (Visscher[1] allerdings führt allein diese Ausnahmen an, die für unsere eigenen Versuche bedeutungslos sind.) Ebenso kann bei Erhöhung des Ausflußwiderstands eine Verschiebung des Blutstroms vom Coronarvenensinus nach den Venae parvae cordis und den Venae minimae Thebesi eintreten, eine Möglichkeit, die bei dem freien Coronarausfluß der Morawitz-Kanüle außer acht bleiben kann, da hier eine Steigerung des Vorhofdrucks sich nicht auszuwirken vermag.

Mit der Anrepschen Versuchsmethodik haben neuerdings Katz, Jochim und Bohning[12] einen Kollateralkreislauf über die Vv. Thebesi bei verschiedenen Durchströmungs- und Innendrucken zu beweisen versucht und hierbei auch den prozentualen Anteil des Coronarsinusausflusses untersucht. Bei kaum ganz entsprechender Technik (von 40 Versuchen nur vier, also 10% geglückt!) waren die erhaltenen Zahlen derart inkonstant, daß ihnen gegenüber den Anrepschen Befunden keine Beweiskraft zukommt.

Weiterhin haben Johnson und Wiggers[13] eine Abhängigkeit der Blutverteilung zwischen Coronarsinus und übrigen Herzvenen vom Innendruck des rechten Ventrikels gefolgert. Eine Herabsetzung desselben soll zu einer Verschiebung nach den Vv. Thebesi führen. Es handelt sich hier jedoch nur um indirekte Schlüsse, da nur der Coronarausfluß und nicht die gesamte Coronardurchblutung gemessen wurden.

Dagegen konnte die Frage des Anteils des Coronarsinusausflusses unter genau den Bedingungen der hämodynamischen Insuffizienz, wie sie für unsere Versuche am H.L.P. Geltung hat — Anrep und Mitarbeiter[11] hatten sie nicht besonders erörtert —, durch unsere eigenen Untersuchungen zusammen mit Bergwall[14] eindeutig geklärt werden. Wir fanden damals mit neuer Methodik, die gestattete, die gesamte Coronardurchblutung zu messen und mit dem Ausfluß aus der Morawitz-Kanüle in Beziehung zu setzen, daß unter allen untersuchten Bedingungen, auch bei Spontaninsuffizienz des Herzens oder Histaminschädigung, der prozentuale Anteil des Coronarausflusses konstant bleibt. Er betrug in sechs Versuchen im Durchschnitt 57,2% der Gesamtdurchblutung, mit Grenzen von 46% nach unten (ein Ausnahmefall) und 67% nach oben (ohne Berücksichtigung des Ausnahmeversuchs Mittelwert 59,4%), also genaue Bestätigung von Evans und Starling[7] sowie von Anrep[11].

Es kann also der Coronarvenensinusausfluß als aliquoter Teil der Gesamtcoronardurchblutung angesehen und den Berechnungen des O_2-Verbrauchs zugrundegelegt werden.

Die Wahrscheinlichkeit, daß man hier, bei einer Berechnung des Coronarsinusausflusses mit 60% der Gesamtcoronardurchblutung, bei der Berechnung des absoluten Sauerstoffverbrauchs und des Gesamtminutenvolumens Fehler macht, ist nach den Befunden von Anrep wie 1 : 20, nach unseren eigenen wie 1 : 6, also nicht gerade sehr groß, und berührt im wesentlichen nur den Vergleich zwischen verschiedenen Versuchen.

Der weitere Einwand angeblich ungenügender Analysengenauigkeit und der bei O_2- und CO_2-Analysen nach van Slyke nur möglichen Bestimmungen von Einzelpunkten fällt weniger ins Gewicht, da er durch genügende Versuchszahl und entsprechend zahlreiche Einzelbestimmungen weitgehend ausgeschaltet werden kann; abgesehen davon, daß die Analysengenauigkeit in unseren Versuchen durch die jahrelange Übung — mit wenigen Ausnahmen sind alle Analysen seit 1930 von mir selbst ausgeführt worden — optimal geworden ist. Zweifellos bedeutet jedoch die Einführung der fortlaufenden Registrierung des O_2-Gehalts des arteriellen und venösen Bluts nach Kramer[15] durch Gollwitzer-Meier[6] (mit weitgehender Bestätigung unserer eigenen Ergebnisse! vgl. [3]) einen erheblichen Fortschritt, mit Ausnahme der Fälle, bei denen besondere Fragestellung auch die Kenntnis der Kohlensäureproduktion verlangt.

Zusammenfassend ist zu sagen, daß die „internal method" in der von uns ausgeübten Weise eine richtige Vorstellung vom Gasstoffwechsel des insuffizienten Herzens ergeben muß. Wir erhielten auch mit ihr die gleichen Ergebnisse [2] wie bei Messung der gesamten Coronardurchblutung nach der Methode de Barenne[16] oder Bergwall-Rühl[14].

Diese Feststellung ist um so mehr notwendig, als die „klassische" external method Fehlerquellen in sich birgt, die weit größer sind als diejenigen der „internal method".

Fehlerquelle 1 ist der von den Vertretern der klassischen Methode bagatellisierte Sauerstoffverbrauch der Lunge, der vom Gesamtverbrauch des H.L.P. abgezogen werden muß, um den Sauerstoffverbrauch des Herzens zu erhalten. Irgendwelche experimentellen Unterlagen für eine Konstanz des Lungenstoffwechsels bei wechselnden Versuchsbedingungen im gleichen Versuch, insbesondere bei Anwendung von Medikamenten (Ausnahme: Digitalis, Visscher[1]) oder Giften sind nie erbracht worden. Dabei sind fundamentale Änderungen beispielsweise des Lungenmilchsäurestoffwechsels (unter Coffein und bei Erstickung) möglich, wie dies durch Rühl und Thaddea[17] direkt nachgewiesen werden konnte. Weiterhin wird nach Evans und Starling[7] der Sauerstoffverbrauch der Lunge mit 1 ccm pro g Herz und Stunde (nach Peters und Visscher[18] einfach mit 20% des initialen Sauerstoffverbrauchs zu Beginn des Versuchs) abgezogen, ohne daß Gewähr dafür besteht, daß auch in jedem Versuch die gleiche Größenordnung besteht; denn die Sauerstoffverbrauchswerte der Lunge schwanken nach Evans und Starling in den verschiedenen Versuchen zwischen 0,81 und 1,4 ccm/g Herz und Stunde, die Absolutzahlen zwischen 0,75 und 1,58 ccm/Minute je nach Tiergröße und Herzgewicht. Bei einem verbleibenden Sauerstoffverbrauch des Herzens von 2,9 ccm O_2/g Herz und Stunde mit Grenzen zwischen 1,1 und 4,1 ccm (vgl. Evans und

Starling[7]) ergibt sich, daß die mit Hilfe der „external method" gewonnenen „Absolutzahlen" — selbst unter Voraussetzung einer Konstanz des Lungenstoffwechsels — auf diese Bezeichnung keinen Anspruch erheben können.

Fehlerquelle 2 ergibt sich daraus, daß in den Untersuchungen von Starling und Visscher[4] und von Gremels[5, 10] der Sauerstoffverbrauch rein volumetrisch am Abfall eines Kroghschen Spirometers ohne Berücksichtigung von Volumänderungen der Lunge gemessen wird. Jede Änderung des inneren Volumens auf der Lungenseite des geschlossenen Systems, wie veränderte Blutfüllung, veränderte Elastizität, erst recht beginnendes Lungenödem, muß die abgelesenen Spirometerwerte verfälschen. Diese Gefahr ist zwar am intakten H.L.P.-Herzen im allgemeinen nicht zu befürchten, andererseits kann die Spirometerkurve nachhinken, wenn der Blutsauerstoff stärker ausgenutzt wird (vgl. Gollwitzer-Meier[19a]). Gollwitzer-Meier führt hierauf die nicht haltbare Angabe von Gremels[5] eines „Debts" des Herzens bei Widerstandsarbeit zurück, während wir den methodischen Fehler bei diesen Versuchen mehr in der mangelnden Berücksichtigung von Stauung und Entstauung der Lunge am Beginn und am Ende der Widerstandsarbeit sehen[20]. Starling[4] selbst hat gezeigt, daß beginnendes Lungenödem am plötzlichen Abfall der Volumenkurve des Kroghschen Spirometers (also einem Pseudomehrverbrauch von Sauerstoff) kenntlich ist. Aber jede Beobachtung am Ende langer Versuche oder bei Anwendung von Herzgiften, die sämtlich auch die Lunge schädigen (vgl. Rühl[2, 8], Mc Guire[21]), zeigt, daß dem Lungenödem ein Stadium des Größer- und Starrerwerdens der Lunge vorausgeht, nach histologischen Befunden ein Praeödem. Auch Lambert und Gremels[22] haben in ihren Lungenödemversuchen schon lange vor dem eigentlichen Lungenödem eine Abnahme des elektrischen Widerstands der Lunge (als Maß vermehrten Flüssigkeitsaustritts) beobachtet. Für die Frage der Sauerstoffverbrauchsbestimmung bedeuten schon diese praeödematösen Veränderungen eine Volumenzunahme in dem geschlossenen System, also eine Pseudozunahme des Sauerstoffverbrauchs am geschädigten Herzen.

Bei Anwendung der Reinschen Stoffwechselapparatur[23] oder bei der neuen modifizierten Methode von Peters und Visscher[18] mit Volumausgleich spielt dieser Fehler keine Rolle mehr. Dagegen ist absolutes Gasdichtbleiben auch der geschädigten, praeödematösen oder ödematösen Lunge auch hier unbedingte Voraussetzung, deren experimentelle Kontrolle kaum durchgeführt sein dürfte.

Die genannten Fehlerquellen machen die „klassische" external method ungeeignet zur Bestimmung des Sauerstoffverbrauchs in Versuchen am versagenden oder geschädigten Herzen.

Dieser Einwand gilt nicht für Untersuchungen am intakten Herzen mit physiologischer Arbeitsleistung (vgl. Gremels[24]). Die „external method" hat gerade hier den Vorteil der laufenden Kontrolle des Herzstoffwechsels, auch verlangt sie keinerlei eingreifende operative Eingriffe, wie sie etwa das Einbinden der Morawitz-Kanüle bedeutet. Auch das Pericard kann geschlossen bleiben, so daß die Lebensdauer der Versuche fraglos verlängert wird.

2. Die Bestimmung der mechanischen Arbeit des Herzens.

Die energetische Betrachtungsweise der Stoffwechselvorgänge verlangt zur Berechnung des Wirkungsgrades Kenntnis der Herzleistung.

Für diese Berechnung ist der arterielle Druck am H.L.P. bekannt, der Pulmonalisdruck wird meist nur geschätzt, von dem Minutenvolumen der Ventrikel ist bei der „external method" nur das sogenannte Systemminutenvolumen bekannt (S.M.V. = Gesamtminutenvolumen minus Coronardurchblutung). Die Coronardurchblutung wird hier — geschätzt mit 60% des Herzgewichts — in die Leistungsberechnung eingesetzt. In Kenntnis der hierdurch entstehenden Fehler hat Starling[1] selbst, was meist übersehen wird, das Gesamtminutenvolumen der Arteria pulmonalis direkt bestimmt. Bei der „internal method" kann das Gesamtminutenvolumen aus S.M.V. + (Coronarausfluß/Minute · $^5/_3$) genau berechnet werden.

Solange wie am intakten Herzen des H.L.P. die Coronardurchblutung klein, das S.M.V. groß ist, kann ein etwaiger Schätzungsfehler der ersteren keine besondere Rolle spielen. Eine Unkenntnis der Größe der Coronardurchblutung muß aber am insuffizienten Herzen, bei dem das S.M.V. abnimmt und die Coronardurchblutung stark ansteigt, zu Fehlern in der Berechnung der Herzleistung führen, welche die ganze energetische Berechnung illusorisch machen. Aus den drei Beispielen in Tabelle 1 ist dies näher ersichtlich.

Tabelle 1. Zahlen für Arbeitsleistung und Wirkungsgrad nach den Berechnungsgrundlagen der „internal" und „external method" (letztere in Klammern).

Versuch Nr. 1 vgl. Nr. 2, Tabelle 3. Naunyn-Schmiedebergs Arch. **172**, S. 583. Spontaninsuffizienz.

.. .. 2 vgl. Versuch 23. März 1932, Tabelle 1, ebenda **174**, S. 699.

.. .. 3 vgl. Versuch 26. September 1932, Tabelle 1, ebenda **172**, S. 573 (Versuch nach Methode Bergwall-Rühl. Coronarausfluß* = Gesamt-Coronardurchblutung).

	ccm S.M.V.	ccm/min. Coronarausfluß	ccm Gesamtminutenvolumen	Herzleistung mkg/Min.	Gesamt-O_2-Verbrauch ccm/Min.	Wirkungsgrad	
1.	500	65	608 (557)	1,54 (1,41)	6,7	10,5 (9,7)	0h 17′
	250	116	410 (274)	0,96 (0,64)	4,5	9,7 (6,5)	2h 58′
2.	577	100	697 (631)	1,57 (1,42)	11,8	6,0 (5,4)	
	183	204	523 (237)	1,07 (0,49)	5,7	8,6 (3,9)	21 Min. nach Somnifen
3.	360	230*	590 (422)	1,06 (0,76)	10,2	4,7 (3,4)	
	200	327*	527 (266)	0,90 (0,45)	6,8	6,0 (3,0)	2 Min. nach
	220	302*	522 (286)	0,88 (0,48)	9,3	4,4 (2,4)	5 „ Histamin

Die Zahlen zeigen eindeutig, wie sich fälschlich eine „Abnahme" des Wirkungsgrades am insuffizienten Herzen bei Anwendung der Berechnungsgrundlagen der „external method", d. h. Schätzung der Coronardurchblutung, ergeben würde. Die optimistischen Angaben von Gremels[10] mit 20% Fehlerbreite bei der Berechnung von Leistung und Wirkungsgrad sind somit, ganz abgesehen vom Fehler bei der Korrektur für den Lungenstoffwechsel, keineswegs zutreffend, soweit es sich um insuffiziente und geschädigte Herzen handelt. Es muß hiernach aber auch gesagt werden, daß in Unkenntnis der wirklichen Coronardurchblutung aufgestellte Wirkungsgradberechnungen für das insuffiziente

Herz jeder Beweiskraft entbehren, gleich, ob es sich um einen, 20 oder 50 Versuche handelt (vgl. Visscher[1]).

3. Befunde im Licht der Methodenkritik.

Die eben beschriebenen Eigenarten und Grenzen der „internal" und „external method" müssen sich auch in den erzielten Ergebnissen ausdrücken. Dabei besteht zwischen beiden Methoden verständlicherweise weitgehende Übereinstimmung bei Versuchen am hämodynamisch intakten H. L. P.-Herzen, ebenso auch bei Anwendung bestimmter Medikamente, z. B. Adrenalin oder Coffein (Kiese[25], Rühl und Thaddea[17a]). Die Differenzen entstehen am insuffizienten, geschädigten Herzen, für das die „external method" nicht als adaequat angesehen werden kann.

Über Befunde, die am insuffizienten Herzen mit ausreichender Methodik erhoben wurden, konnte 1937 in diesem Archiv zusammenfassend berichtet werden[3]. Ergebnis: Der Sauerstoffverbrauch des insuffizienten Herzens (Spontanversagen, Schädigung durch Histamin und Barbitursäure) steigt nicht mit der Faserlänge an, nimmt sogar meist trotz Dilatation ab; dabei häufig Pseudobesserung des Wirkungsgrads bei hohen RQ.-Werten über 1,0. Unter Strophanthin[3, 9] erfolgt Rückkehr der pathologischen Störungen zur Norm. Die entgegenstehenden Befunde von Gremels[5] bei Barbitursäureschädigungen sind aus den oben angeführten Gründen methodisch nicht einwandfrei. Es ist hier auch darauf hinzuweisen, daß die Gremelssche Vorstellung[10] einer Senkung des Sauerstoffverbrauchs durch Strophantin in therapeutischen und einer Steigerung bei „toxischen" Dosen durch einwandfreie Experimente am geschädigten Herzen nicht gestützt ist; auch hat Gollwitzer-Meier[26] bei sicher extrem hohen Strophantindosen Abnahme des Sauerstoffverbrauchs gesehen. Darüber hinaus ist der „Wert" der Leistungsberechnungen von Gremels[5], Peters und Visscher[18] und anderen Anhängern der klassischen Methode am insuffizienten Herzen im vorausgehenden Abschnitt kritisch beleuchtet worden.

Visscher[1] versucht, in seiner Kritik unsere Befunde vor allem bei Spontaninsuffizienz zu entkräften.

Es besteht jedoch hier zwischen allen Befunden Übereinstimmung, die mit der „internal method" gewonnen wurden, d. h. Abnahme des Sauerstoffverbrauchs trotz Dilatation bzw. zumindestens nicht eine der Dilatation entsprechende Zunahme. Evans und Starling[7] haben zuerst diese Abnahme nachgewiesen, sind auch von uns[2] ausdrücklich zitiert worden, was Visscher offenbar entgangen ist. Die grundsätzliche Übereinstimmung unserer Befunde mit denen von Gollwitzer-Meier[6, 26] ist ebenfalls früher schon eingehend aufgezeigt worden[3]. 1938 ist dann von Gollwitzer-Meier[27] die von uns angenommene Acidose am insuffizienten Herzen, mit der wir unsere hohen RQ.-Werte als Erstickungs-RQ. erklärten, direkt nachgewiesen worden; dabei wurde die Tatsache einer Abnahme des Sauerstoffverbrauchs erneut bestätigt. Zuletzt haben noch neuere amerikanische Untersuchungen[28] am vollkommen isolierten Herzen mit direkter Messung aller Volumengrößen und Bestimmung des Sauerstoffverbrauchs ebenso wie wir eine Abnahme des Sauerstoffverbrauchs bei Versagen des Herzens feststellen können; dabei blieb der Wirkungsgrad mit Ausnahme einer terminalen Abnahme unverändert; als entscheidend für das Herzversagen wird von den Autoren die Unfähigkeit zu energetischen Umsetzungen und nicht eine Abnahme des Wirkungsgrads angesehen. Diesen übereinstimmenden Befunden gegenüber kann die mit Hilfe der „klassischen" Methode gefundene Sauerstoffverbrauchssteigerung am insuffizienten

Herzen nur auf einem methodischen Fehler beruhen; bei gleichzeitiger Anwendung der inneren und äußeren Methode (vgl. Evans und Starling[7]) sind demnach die „inneren" Werte richtig und die „äußeren" falsch und nicht umgekehrt.

Nun bemüht sich Visscher, aus den von uns mitgeteilten hohen RQ.-Werten einen Beweis gegen die Richtigkeit unserer Befunde abzuleiten. Er berechnet aus unseren Tabellen eine „Überschußkohlensäure aus unbekannter Quelle". Er geht dabei davon aus, daß der Puffer-CO_2-Gehalt des Herzmuskels nur 20 Vol.-% beträgt und nach Erschöpfung dieser Menge CO_2-Abgaben des Herzens über einen RQ. von 1 hinaus angeblich nicht mehr erklärt werden können. Er übersieht dabei, daß das H.L.P.-Herz sich nicht in einem luftleeren Raum, sondern in einem geschlossenen System mit großen Blutmengen befindet, aus denen im langfristigen Versuch ein Ersatz verlorener Puffercarbonate erfolgen kann. Eine echte Kohlensäurebildung aus nichtoxydativen Quellen ist zwar auch unseres Erachtens primär nicht sehr wahrscheinlich, aber bei der Kompliziertheit der chemischen Umsetzungen im Herzmuskel, die sich ganz wesentlich von denen des Skeletmuskels unterscheiden (vgl. z. B. Milchsäurestoffwechsel), gerade auch auf Grund unserer Werte noch nicht negativ entschieden.

Visscher übersieht bei seiner Berechnung der Menge der sogenannten überschüssigen CO_2 weiterhin, daß man etwa bei einem RQ. von 0,87 zu Beginn und 1,57 am Ende eines Versuchs nicht für die Gesamtversuchszeit eine CO_2-Bildung auf der Basis des RQ. von 1,57 berechnen kann. Auch Mittelwerte sind für die Versuche 1, 3 und 4 nicht zulässig, da die punktförmige Gasanalyse in unseren Versuchen keine Möglichkeit gibt, den Beginn der hohen CO_2-Abgaben zeitlich genau festzusetzen.

Diese angebliche Überschußkohlensäure gibt Visscher Veranlassung, aus unseren Protokollen nun überhaupt die CO_2-Bildung zu berechnen und als Maß der oxydativen Prozesse für die energetische Berechnung einzusetzen. Er kommt hierbei zu folgenden erstaunlichen Schlüssen: „Die Überschußkohlensäure (in den Versuchen Rühls) zeigt einen Gesamtverbrauch von Sauerstoff an, der größer ist als auf Grund des Coronarsinusblutes berechnet wird. Wird die CO_2-Bildung als Kriterium verwandt, so zeigt sich im Widerspruch mit seinen eigenen auf Grund des O_2-Verbrauchs erhaltenen Berechnungen und in Übereinstimmung mit anderen Autoren, daß der Stoffwechsel des Herzens beim Versagen zunimmt und der mechanische Wirkungsgrad sich vermindert". Es ist Visscher völlig entgangen, daß hierbei die CO_2-Bildung aus dem gleichen Blut im gleichen Analysengang unter Zugrundelegung der gleichen (nach Visscher angeblich ja unrichtigen) Coronardurchblutung, d. h. mit Hilfe der gleichen „internal method" bestimmt wurde wie der O_2-Verbrauch. Es kann also nur beides richtig oder beides falsch sein. Mit derartigen Berechnungen wird die Frage der richtigen Methode der Bestimmung des Gasstoffwechsels des insuffizienten Herzens kaum geklärt werden.

Zusammenfassung.

1. Die „internal" und „external" method zur Bestimmung des Sauerstoffverbrauchs am geschädigten Herzen des H. L. P. werden einander kritisch gegenübergestellt.

2. Die Einwände gegen die „internal method" sind experimentell widerlegt und nicht haltbar.

3. Dagegen sind die Fehlerquellen der „klassischen" external method so groß, daß dieselbe für Bestimmungen am insuffizienten Herzen nicht brauchbar ist.

4. Berechnungen der Herzleistung am insuffizienten Herzen ohne Kenntnis der Coronardurchblutung sind hinfällig, dementsprechend auch die auf falschen Herzleistungen fußenden energetischen Vorstellungen.

5. Die vor kurzem von Visscher in diesem Archiv gegen unsere eigenen früheren Arbeiten erhobenen Angriffe beruhen auf unrichtigen methodischen und rechnerischen Voraussetzungen.

Literatur.

[1] Visscher: M. B.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 266 (1938).
[2] Rühl: Ebenda **172**, 568 (1933).
[3] Rühl: Ebenda **187**, 22 (1937).
[4] Starling u. Visscher: J. Physiol. (Brit.) **62**, 16 (1927).
[5] Gremels: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **169**, 689 (1933).
[6] Gollwitzer-Meier, Kramer u. Krüger: Pflügers Arch. **237**, 68 (1936).
[7] Evans u. Starling: J. Physiol. (Brit.) **46**, 413 (1913).
[8] Rühl: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **174**, 96 (1933).
[9] Rühl u. Wiehler: Ebenda **175**, 665 (1934).
[10] Gremels: Ebenda **186**, 625 (1937).
[11] Anrep, Blalock u. Hammouda: J. Physiol. (Brit.) **122**, 236 (1938).
[12] Katz, Jochim u. Bohning: Amer. J. Physiol. **122**, 236 (1938).
[13] Johnson u. Wiggers: Ebenda **118**, 38 (1937).
[14] Bergwall u. Rühl: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **171**, 457 (1933).
[15] Kramer: Z. Biol. **96**, 61 (1935).
[16] de Barenne: Pflügers Arch. **198**, 281 (1921).
[17] Rühl u. Thaddea: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 438 u. 452 (1939).
[18] Peters u. Visscher: Am. Heart J. **11**, 273 (1936).
[19] Gollwitzer-Meier u. Krüger: Pflügers Arch. **238**, 279 (1936).
[19a] Klin. Wschr. **18**, 225 (1939).
[20] Rühl: Zbl. inn. Med. **59**, 242 (1938).
[21] Mc. Guire: Z. exper. Med. **71**, 543 (1930).
[22] Lambert u. Gremels: J. Physiol. (Brit.) **61**, 98 (1926).
[23] Rein u. Krayer: Zbl. inn. Med. **56**, 707 (1935).
[24] Gremels: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **182**, 1 (1936).
[25] Kiese u. Gummel: Klin. Wschr. **17**, 927 (1938).
[26] Gollwitzer-Meier u. Krüger: Pflügers Arch. **238**, 251 (1936).
[27] Gollwitzer-Meier, Häußler u. Krüger: Ebenda **239**, 120 (1937).
[28] Katz u. Mendlowitz: Amer. J. Physiol. **122**, 252 (1938) u. **123**, 112 (1938).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Leipzig.
(Direktor: O. Gros.)

Untersuchungen über die pharmakologische Beeinflussung vegetativer Zentren.

II. Mitteilung:

Von

Hans T. A. Haas.

(Eingegangen am 13. Februar 1939).

In einer früheren Mitteilung[1] konnte für mehrere am vegetativen System angreifende Pharmaca gezeigt werden, daß einem Teil dieser Substanzen neben den genügend bekannten Wirkungen auf das periphere vegetative System auch Einflußmöglichkeiten auf die vegetativen Zentren (v. Z.) zukommen, wenn diese Stoffe unter Umgehung des Gefäßsystems mittels der intracisternalen Injektion in die unmittelbare Nähe der v. Z. gebracht werden. Zur weiteren Klärung dieser Befunde wurden neue Untersuchungen durchgeführt. Diese zielen daraufhin, die Wirkung auf die v. Z. die bisher nur indirekt an einer Beeinflussung bestimmter vegetativ innervierter Funktionen gezeigt werden konnte, auch direkt im Bereich des Z.N.S. im Experiment am Tier zu erfassen. Dieser Nachweis ist zu führen, wenn sich unter der Einwirkung vegetativer Pharmaca Schwankungen im Gehalt oder in der Zusammensetzung bestimmter Bestandteile des Z.N.S. aufzeigen lassen. Da in den letzten Jahren sich die Beweise für die Auffassung, daß die Wirkungen des vegetativen Systems durch das Freiwerden spezifisch wirksamer chemischer Stoffe hervorgerufen werden, in rascher Folge gemehrt haben, war es naheliegend, die Lösung unserer Fragestellung in dieser Richtung zu suchen und zu prüfen, ob sich bei der Beeinflussung der v.Z. das Auftreten dieser chemischen Stoffe oder eine Änderung im Gehalt des Z.N.S. an diesen Substanzen nachweisen ließ.

Auf die Möglichkeit, daß bei zentralnervösen Vorgängen ein chemischer Mechanismus eine Rolle spielt, weisen bereits vereinzelte Angaben und Befunde in der Literatur hin. Sie befassen sich speziell mit dem Einfluß von Pharmaca auf den Azetylcholin (ACh.)-Gehalt des Z.N.S. So findet sich eine kurze Notiz Loewis[2], nach der bei langanhaltenden Strychninkrämpfen der Gehalt des Froschnervensystems an ACh. erhöht werden soll. Fegler[3] und Mitarbeiter haben dagegen über eine Herabsetzung

[1] Haas, H. T. A.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 119 (1938). — [2] Loewi, O.: Naturw. **25**, 461 (1937). — [3] Fegler, J., H. Kowarzyk u. Z. Lelusz-Lachowicz: Klin. Wschr. **1938**, S. 240.

des ACh.-Gehalts im Hirnstamm und Rückenmark von Kaninchen bei dem Eintritt von Strychninerregungszuständen berichtet. Gleichzeitig fanden sie eine Erhöhung des ACh.-Gehalts im Nervensystem unter der Einwirkung des Tetanustoxins. In einer weiteren Mitteilung[4] stellten diese Autoren zudem fest, daß durch eine Narkose, die zu einer Aufhebung der Strychninerregung führt, einer Änderung des ACh.-Gehalts vorgebeugt werden kann. Sie sehen darin den Hinweis, daß bei Erregungs- und Hemmungszuständen des Z.N.S. das ACh. mit beteiligt ist.

In Anlehnung an diese Arbeiten wurde in den eigenen Versuchen geprüft, inwieweit sich eine Beeinflussung des ACh.-Gehalts des Z.N.S. beim Kaninchen durch die bereits in der früheren Arbeit benutzten vegetativen Pharmaca nachweisen ließ. Zudem war zu untersuchen, ob sich in Parallele zu den früheren Ergebnissen bei der verschiedenartigen Einführung dieser Stoffe in den Organismus mittels der intravenösen und der intracisternalen Injektion Unterschiede in der Wirkung auf das Z.N.S. und insbesondere auf die v.Z. ergaben.

Methodik.

Die Versuche wurden an Kaninchen im Gewicht von 1600—2500 g vorgenommen. Die Dosierung der Pharmaca erfolgte bei der intravenösen und intracisternalen Injektion stets pro Tier. Die Injektion in die Cisterne wurde in der gleichen Art vorgenommen wie bei den früheren Versuchen. Tiere, bei denen eine blutige Verfärbung des Liquors bei der suboccipitalen Punktion eintrat, wurden nicht verwandt.

Zum Nachweis des ACh. diente das Verfahren nach Engelhart[5], bei dem die Extraktion des ACh. mit n/100 alkoholischer Salzsäure erfolgt. Nach Filtration und Eindampfen zur Trockne wird der Rückstand in Ringer aufgenommen. Bei jedem Kaninchen wurden Hirnstamm und Hirnrinde getrennt untersucht. Das Gehirn wurde ohne Narkose nach der Dekapitation sofort entnommen, zerkleinert und nach der Extraktion sogleich am eserinierten Blutegel durch Vergleich mit bekannten ACh.-Konzentrationen ausgetestet. Die Berechnung des ACh.-Gehalts erfolgte in γ pro g Hirngewebe.

Eigene Versuche.

I.

In Vorversuchen wurde zunächst an unbehandelten Tieren der ACh.-Gehalt in Hirnrinde und Hirnstamm festgestellt. Diese Befunde sind in Tabelle 1 zusammengestellt. Die Werte für die ACh.-Äquivalente in Hirnstamm und -rinde gelten für je ein Einzeltier.

[4] Fegler, J., H. Kowarzyk u. Z. Lelusz-Lachowicz: Klin. Wschr. **1938**, S. 667. — [5] Engelhart, E.: Pflügers Arch. **225**, 721 (1930).

Unbehandelte Tiere.

Tabelle 1. ACh.-Äquivalente in γ/g Nervengewebe.

Hirnrinde	Hirnstamm
2,0	5,0
1,0	5,0
1,0	4,0
0,5	2,5
Mittelwert: $1{,}1 \pm 0{,}31$	$4{,}1 \pm 0{,}59$

Zu einer vergleichenden Beurteilung der bei der Einführung vegetativer Pharmaca gewonnenen Befunde ergab sich die Notwendigkeit einer statistischen Auswertung der Versuchsergebnisse, für die wir die bei R. A. Fischer[6] beschriebenen Methoden verwandten. Es werden daher in den Tabellen neben der Angabe der Einzelwerte stets die Mittelwerte und ihre mittlere Fehlerbreite unter Berücksichtigung der Streuung angeführt. In den späteren Tabellen ist zudem die Abweichung der erhobenen Befunde von dem berechneten Mittelwert der Normalversuche wiederum unter Angabe des mittleren Fehlers eingefügt.

Die Beschränkung auf eine geringe Anzahl von Normalversuchen wurde ermöglicht durch eine gute Übereinstimmung der eigenen Versuche mit einem Teil der Angaben, die sich in der Literatur vorfanden. So ergab sich bei einer Berechnung des Mittelwerts der Versuchsergebnisse Feglers und Mitarbeiter[3, 4] ein ACh.-Gehalt von $4{,}9 \pm 0{,}34\ \gamma$/g Hirngewebe. Dieser Wert bezieht sich auf den ACh.-Gehalt von Rückenmark und Hirnstamm des Kaninchens und auf 19 Einzelversuche. Loewi und Hellauer[7] stellten im Rückenmark und Hirnstamm von Kaninchen 3,7, 2,5, 2,5 und $4{,}5\ \gamma$/g fest, das entspricht einem mittleren Gehalt von $3{,}3\ \gamma$/g. Weiter bestimmte noch Dikshit[8] ACh. in den Basalganglien vom Kaninchen und fand $0{,}04 - 1{,}0\ \gamma$/g bzw. im Durchschnitt $0{,}15\ \gamma$/g bei vier Kaninchen. In einer weiteren Arbeit gibt Dikshit[9] den ACh.-Gehalt des Katzen- und Kaninchenhirn mit $0{,}5 - 4{,}0\ \gamma$/g an. Die meisten angeführten Werte stehen zu den eigenen Versuchsergebnissen in Parallele. Die unterschiedlichen Befunde beruhen sicherlich zum Teil auf der Anwendung verschiedenartiger Extraktionsverfahren. Fegler und Mitarbeiter[3, 4] benutzten das Verfahren von E. und E. Stedman[10] und teilweise in Übereinstimmung mit den eigenen Versuchen alkoholische Salzsäurelösung. Loewis Befunde wurden mit der von ihm angegebenen Kochmethode ermittelt und Dikshit stellte den Extrakt mit Aceton-Wasser-Essigsäure her. Durch die Untersuchungen Loewis ist aber nachgewiesen, daß nicht jedes Extraktionsverfahren gleichwertige Resultate liefert.

[6] Fischer, R. A.: Statist. Meth. f. Research Workers. Edinburgh: Oliver and Boyd 1925. — [7] Loewi, O., u. H. Hellauer: Pflügers Arch. **240**, 449 (1938). — [8] Dikshit, B. B.: J. Physiol. (Brit.) **80**, 409 (1934). — [9] Dikshit, B. B.: Ebenda **79**, 1 (1933). — [10] Stedmann, E., u. E. Stedmann: Biochem. J. (Brit.) **31**, 815 (1937).

Erwähnenswert sind ferner die Unterschiede im Gehalt des Hirnstamms und der Hirnrinde an ACh. Auch Dikshit[9] fand bereits, daß der ACh.-Gehalt der Basalganglien am höchsten ist und in der Rinde sich weniger nachweisen läßt. Die Mengenunterschiede in den einzelnen Hirnabschnitten sind übrigens auch bei der Bestimmung der Cholinesterase beträchtlich, wie Pighini[11] erneut feststellen konnte. Diese Ergebnisse verdienen deshalb Beachtung, weil sich aus den Arbeiten Changs und Gaddums[12] über die Verteilung des ACh. in den verschiedenen Geweben und in den Befunden Plattners und Hintners[13] über die Verteilung der Cholinesterase gewisse Übereinstimmungen bezüglich der Höhe des Gehalts der einzelnen Organe an ACh. und Esterase ergaben. Es fanden sich insbesondere keine Gewebe mit hohen ACh.-Werten, die arm an Esterase waren.

Pilocarpin.

Tabelle 2. ACh.-Äquivalente in γ/g Nervengewebe.

Pilocarpin Dosis mg/Tier	Intracisternal		Intravenös	
	Hirnrinde	Hirnstamm	Hirnrinde	Hirnstamm
0,1	2,0	2,5	1,0	6,0
1,0	0,7	1,0	0,5	2,0
2,0	1,5	2,0		
10,0	1,0	2,0	0,5	2,0
Mittelwert*	$1{,}1 \pm 0{,}21$	$1{,}7 \pm 0{,}33$	0,5	2,0
Differenz/Norm	± 0	$-2{,}4 \pm 0{,}75$	$-0{,}6 \pm 0{,}47$	$-2{,}1 \pm 0{,}88$

* Der Dosen ab 1 mg/Tier.

Für die Beurteilung dieser Versuchsergebnisse und der nachfolgenden Befunde ist es notwendig zu beachten, daß infolge der geringen Anzahl der Tiere eine Sicherstellung der erzielten Resultate im Sinne eines Unterschiedes gegenüber den Normalwerten angenommen werden darf, wenn die errechnete Differenz im ACh.-Gehalt bei unbehandelten und vorbehandelten Tieren durchschnittlich den dreifachen mittleren Fehler überschreitet. In diesen Fällen ist der Ausfall der Versuchsergebnisse mit einer großen Sicherheit als positiv zu bezeichnen. Unter Einhalten dieser Bedingung, die auch für die folgenden Versuchsreihen gilt, ist aus den vorliegenden Befunden zu entnehmen, daß unter der Einwirkung des Pilocarpins in höheren Dosen lediglich in eindeutiger Weise eine Herabsetzung des ACh.-Gehalts im Hirnstamm stattfindet und zwar nur bei der intracisternalen Injektion. Bei der Anwendung kleinerer Dosen intracisternal ist eine sichere Wirkung auf den Gehalt an ACh. in Hirnstamm und Rinde aus den vorliegenden Versuchen nicht faßbar. Es bestätigen somit diese Versuche die früheren Ergebnisse,

[11] Pighini, G.: Riv. sper. Freniatr. ecc. **62**, 439 (1938). — [12] Chang, H. C., u. J. H. Gaddum: J. Physiol. (Brit.) **79**, 255 (1933). — [13] Plattner, F., u. H. Hintner: Pflügers Arch. **225**, 19 (1930).

nach denen bei der Einführung von Pilocarpin auf dem Wege über die Cisterne eine Beeinflussung der v. Z. angenommen wurde. Auch in der Höhe der Dosen, die zu einem deutlichen Effekt führen, stehen beide Untersuchungsreihen in guter Übereinstimmung, da auch eine stärkere Wirkung auf die vegetativ innervierten Funktionen bei intracisternaler Injektion erst in Dosen von 0,5—1 mg eintrat.

Bei der intravenösen Injektion ist auf Grund des vorliegenden Untersuchungsmaterials eine sichere Beeinflussung des ACh.-Gehalts nicht nachweisbar. Jedoch besteht die Möglichkeit, daß sich bei der Benutzung eines größeren Tiermaterials eine Minderung des ACh.-Gehalts im Bereich des Hirnstamms unter dem Einfluß größerer intravenös verabreichter Pilocarpingaben beweisen ließe, da schon bei der geringen Anzahl von Versuchen beträchtliche Abweichungen von den Normalwerten gefunden werden konnten.

Azetylcholin.

Tabelle 3. ACh.-Äquivalente in γ/g Nervengewebe.

Azetylcholin Dosis γ/Tier	Intracisternal		Intravenös	
	Hirnrinde	Hirnstamm	Hirnrinde	Hirnstamm
100	1,0	2,5	1,0	3,0
100	1,0	4,0		
Mittelwert	1,0	3,3 ± 0,71		
Differenz/Norm	− 0.1 ± 0,47	− 0,8 ± 0,94	0,1	− 1,1

Beim Azetylcholin sind Änderungen im ACh.-Gehalt weder bei intracisternaler noch intravenöser Injektion zu erzielen trotz der Benutzung von Dosen, denen peripher sicher eine Wirksamkeit zuzusprechen ist. Auch hier sind also die Befunde gleichlaufend mit den früheren Untersuchungsergebnissen, bei denen eine vorwiegend periphere Beeinflussung des vegetativen Systems durch Azetylcholin bereits angenommen wurde.

Adrenalin.

Tabelle 4. ACh.-Äquivalente in γ/g Nervengewebe.

Adrenalin Dosis γ/Tier	Intracisternal		Intravenös	
	Hirnrinde	Hirnstamm	Hirnrinde	Hirnstamm
10	0,35	1,5	0,5	2,0
10	0,5	1,0	0,35	1,4
50	0,1	1,0	0,25	1,0
100			0,1	1,0
Mittelwert	0,32 ± 0,12	1,2 ± 0,17	0,3 ± 0,17	1,6 ± 0,28
Differenz/Norm	− 0,78 ± 0,39	− 2,9 ± 0,71	0,8 ± 0,39	− 2,5 ± 0,65

Beim Adrenalin sprechen die erhobenen Befunde wiederum zugunsten der Annahme einer Beeinflussung der v. Z. Die Wirkstärke geht dabei,

soweit die geringe Anzahl der Versuche eine derartige Beurteilung gestattet, offenbar parallel mit der Größe der angewandten Adrenalindosierung.

Auffallend ist bei den Adrenalinversuchen, daß sich auch bei intravenöser Injektion eine Herabsetzung des ACh.-Gehalts im Bereich des Hirnstamms einstellt. Auf diese Befunde und ihre Deutung wird noch später eingegangen werden.

Der Nachweis einer Wirkung des Adrenalins auf die Hirnrinde und ihren ACh.-Gehalt ist bei beiden Applikationsarten bei einer Zusammenfassung aller Einzelbefunde nicht zu erbringen. Bei höherer Dosierung von 50 und 100 γ Adrenalin sind die mengenmäßigen Unterschiede im Gehalt der Rindenabschnitte an ACh. allerdings so ausgeprägt gegenüber den Befunden bei normalen Tieren, daß bei alleiniger Betrachtung dieser Versuche auch hier ein positiver Effekt zu verzeichnen ist.

Ergotamin.

Tabelle 5. ACh.-Äquivalente in γ/g Nervengewebe.

Ergotamin Dosis mg/Tier	Intracisternal		Intravenös	
	Hirnrinde	Hirnstamm	Hirnrinde	Hirnstamm
0,25	0,1	0,6	1,0	4,0
0,25	0,25	1,0	0,5	5,0
0,25	0,15	1,0		
1,0	0,5	2,0	0,5	5,0
1,0	0,5	2,5		
Mittelwert Dosis 0,25	0,17 ± 0,05	0,9 ± 0,13	0,7 ± 0,15*	4,7 ± 0,33
Differenz/Norm	− 0,93 ± 0,31	− 3,2 ± 0,64	− 0,4 ± 0,39	+ 0,6 ± 0,7
Mittelwert Dosis 1,0	0,5	2,2 ± 0,25		
Differenz/Norm	− 0,6 ± 0,47	− 1,9 ± 0,89		

* Mittelwert aus allen Versuchen.

Bei intravenöser Injektion ist dem Ergotamin eine Wirkung auf die Menge an ACh. in Hirnstamm und -rinde abzusprechen.

Ebenso ergaben sich bei der Anwendung höherer Dosen auch bei der intracisternalen Injektion für den ACh.-Gehalt des Z.N.S. Werte, die noch in den Bereich der Streuung der Befunde bei unbehandelten Tieren fallen. Im Gegensatz hierzu führen kleinere Gaben von Ergotamin bei intracisternaler Injektion in allen Fällen zu einer deutlichen Minderung der ACh.-Menge im Bereich des Hirnstamms und der Hirnrinde, die auch bei Berücksichtigung der mittleren Fehlerbreite noch als reell zu bezeichnen ist. Diese letzteren Befunde sind zunächst nicht völlig in Einklang zu bringen mit den in der ersten Mitteilung gemachten Angaben, nach denen dem Ergotamin ein spezifischer Einfluß auf die v.Z. bei intracisternaler Injektion abgesprochen wurde, da sich Unterschiede in der Ansprech-

barkeit der vom vegetativen System abhängigen Funktionen mit genügender Eindeutigkeit bei verschiedenartiger Einführung des Ergotamins in den Organismus nicht nachweisen ließen. Die jetzigen Ergebnisse scheinen jedoch zum Teil für eine zentrale Wirksamkeit des Ergotamins zu sprechen, die sich dann allerdings gleichzeitig und etwa in gleicher Stärke auf die Hirnstamm- und Rindenpartien richtet. Mit dem Auftreten allgemein zentralnervöser Symptome dürfte jedoch die Möglichkeit einer exakten Abgrenzung spezifischer Einflüsse auf die v. Z. zumeist entfallen. Damit ist aber das Ergebnis aus den beiden Versuchsreihen trotz der aufgezeigten Unterschiede nicht mehr als ein unbedingt gegensätzliches zu bezeichnen.

Eine Erklärung für das unterschiedliche Verhalten des Ergotamins auf den ACh.-Gehalt des Z. N. S. in niedriger und höherer Dosierung ist mit diesem Hinweis allerdings nicht gewonnen. Eine Deutung dieser Frage ist vermutlich zu suchen in der Tatsache, daß für die Höhe des ACh.-Gehalts, der nach der Extraktion bestimmt wird, eine Mitbeteiligung der Cholinesterase eine Rolle spielt. Nach Loewi und Navratil[14], Ammon[15] und Matthes[16] soll eine Hemmung der Esterase durch Ergotamin erst in höherer Konzentration zustande kommen. Bei kleineren Dosen ließ sich dagegen eine Beeinflussung der Esterase nicht sicher nachweisen; es trat somit bei diesen Gaben eine schnellere Spaltung des ACh. als bei höheren Dosen ein. So fand Matthes, daß eine Ergotaminkonzentration von $1 : 10^4$ im Blute eine Hemmung der Cholinesterasetätigkeit zur Folge hat, während bei einer Konzentration von $1 : 10^5$ ein Effekt kaum noch vorhanden war. Versucht man diese Befunde auf die eigenen Versuche zu übertragen, so ist für die von uns gewählten Ergotamingaben die Möglichkeit nicht völlig auszuschließen, daß infolge Verteilung des Ergotamins im gesamten oder in einem Teil des Kaninchenblutes ein ähnlich verschiedenartiges Verhalten in der Beeinflussung der Cholinesterase auftreten kann, die die im Hirnextrakt ermittelten Unterschiede im ACh.-Gehalt erklären würden. Wir halten uns jedoch nicht berechtigt, in dieser Deutung mehr als einen Hinweis zu sehen, wenn auch die übrigen mit Pilocarpin und Adrenalin erhobenen Befunde sich gut in diesen Zusammenhang einfügen lassen. Nach Keeser[17] vermag Pilocarpin die Cholinesterase zu aktivieren. Ebenso bewirkt Sympatol eine kräftige Steigerung der Cholinesterase. Bei der nahen pharmakologischen Verwandtschaft von Sympatol und Adrenalin dürfte eine ähnliche Wirkung für Adrenalin zu vermuten sein. Mit der Aktivierung der Cholinesterasetätigkeit muß aber eine beschleunigte Spaltung von ACh. einsetzen und somit entsprechend den Versuchsergebnissen nur ein geringer Gehalt an ACh. im Hirnextrakt, insbesondere in den esterasereichen Partien des Mittelhirns auffindbar sein.

---

[14] Loewi, O., u. E. Navratil: Pflügers Arch. **214**, 689 (1926). — [15] Ammon, R.: Ebenda **233**, 486 (1933). — [16] Matthes, K.: J. Physiol. (Brit.) **70**. 338 (1930). — [17] Keeser, E.: Klin. Wschr. **1938**, S. 1811.

Allerdings dürfte es zu weit gehen, den Einfluß der Esterase allein für die erhobenen Befunde verantwortlich zu machen. Nach den Untersuchungen Stedmanns[10], Corteggianis und Mitarbeiter[18], sowie Loewis und Mitarbeiter[7, 19] ist das ACh. im Nerven- und Hirngewebe in einer Vorstufe enthalten, die nach Loewi gegenüber der Esterase resistent ist. Es kann daher erst ein Einfluß der Cholinesterase sekundär zustande kommen, wenn freies ACh. auftritt. Das Freiwerden des ACh. selbst dürfte aber nur als direkte Folge einer Beanspruchung des Nervengewebes einsetzen. Damit bleibt aber für die vorliegenden Versuche trotz des Hinweises auf die Möglichkeit einer Beteiligung der Cholinesterase die Tatsache bestehen, daß eine Änderung im ACh.-Gehalt des Z. N. S. unter dem Einfluß von Pharmaca identisch ist mit einer Wirkung dieser Pharmaca auf den betreffenden Hirnabschnitt.

II.

Als weitere Stütze für die Auffassung, daß in der Herabsetzung des ACh.-Gehalts des Z.N.S. direkte Angriffspunkte der untersuchten Pharmaca in den nervösen Zentralorganen zum Ausdruck kommen, können ferner eigene Beobachtungen angeführt werden. Es handelt sich dabei um antagonistische Versuche. Bei diesen wurde das Verhalten des ACh.-Gehalts des Z.N.S. bei Tieren geprüft, denen vor der Injektion eines vegetativen Pharmacons mit vermutlich zentraler Wirksamkeit ein Narkoticum verabreicht wurde. In einer zweiten Versuchsreihe wurde anschließend untersucht, wie sich eine Blockade des peripheren vegetativen Systems, die selbst auf den Gehalt des Z.N.S. an ACh. keinen Einfluß ausübt, gegenüber einer Herabsetzung des ACh. durch vegetative Pharmaca auswirkt. Bei diesen antagonistischen Versuchen beschränkten wir uns auf eine Untersuchung des Adrenalins.

Paraldehyd.

Als Narkoticum wurde Paraldehyd verwandt, nachdem in Vorversuchen festgestellt war, daß diesem in der benutzten Dosierung keine Wirkung

Tabelle 6. ACh.-Äquivalente in γ/g Nervengewebe.

Paraldehyd subcutan Dosis mg/kg	Hirnrinde	Hirnstamm
300	0,4	3,0
300	0,5	4,0
Mittelwert	$0{,}45 \pm 0{,}05$	$3{,}5 \pm 0{,}5$
Differenz/Norm	$-0{,}55 \pm 0{,}47$	$-0{,}6 \pm 0{,}88$

[18] Corteggiani, E., J. Gautrelet, A. Kaswin u. C. Mentzer: C. r. Congr. franç. Méd. **123**, 667 (1936); E. Corteggiani: Ebenda **124**, 1197 (1937); E. Corteggiani u. J. Gautrelet: Ebenda **125**, 944, 949 (1937). — [19] Loewi, O., R. Hagen, H. Kohn u. G. Singer: Pflügers Arch. **239**, 430 (1937).

auf den ACh.-Gehalt zukommt. Die Paraldehydzufuhr erfolgte stets subcutan in Dosen von 300 mg/kg 10 Minuten vor Injektion des Adrenalins, Die gewählte Paraldehyddosis liegt weit unterhalb der Seitenlagendosis. die am Kaninchen mit 600 mg/kg bestimmt wurde.

Ergotamin.

Zur Blockade des peripheren vegetativen Systems diente Ergotamin intravenös verabreicht in einer Dosierung von 0,25 und 1 mg/Tier. Ein antagonistischer Einfluß von Ergotamin gegenüber Adrenalin kann auf Grund zahlreicher Beobachtungen als gesichert gelten. Zudem kommt, wie die eigenen Versuche nachweisen konnten, dem Ergotamin in diesen Dosen bei intravenöser Injektion ein Einfluß auf den ACh.-Gehalt nicht zu.

Antagonistische Versuche mit Paraldehyd.

Tabelle 7. ACh.-Äquivalente in γ/g Nervengewebe.

Paraldehyd Dosis mg/kg	Adrenalin γ/Tier	Intracisternal		Intravenös	
		Hirnrinde	Hirnstamm	Hirnrinde	Hirnstamm
300	10	0,5	2,5	0,5	2,5
300	50	1,0	5,0	1,0	2,5
300	50	2,0	3,5	1,0	3,5
300	100	0,5	5,0	0,35	1,0
Mittelwert		1,0 $\pm$ 0,35	4,0 $\pm$ 0,45	+ 0,8 $\pm$ 0,17*	2,8 $\pm$ 0,33
Differenz/Norm		− 0,1 $\pm$ 0,47	− 0,1 $\pm$ 0,75	− 0,3 $\pm$ 0,4	− 1,3 $\pm$ 0,75
Differenz/Adrenalin allein		+ 0,68 $\pm$ 0,38	+ 2,8 $\pm$ 0,47	+ 0,5 $\pm$ 0,15	0,12 $\pm$ 0,39

* Mit Ausnahme des Versuches mit 100 γ Adrenalin.

Nach Vorbehandlung mit Paraldehyd zeigte sich, daß dieses Narkoticum der Herabsetzung des ACh.-Gehalts durch Adrenalin vorzubeugen vermag. Die antagonistische Wirkung ist auch unter Berücksichtigung der Streuung der Einzelbefunde gewahrt. Wie aus der Tabelle ersichtlich ist, ergeben sich im Gebiet des Hirnstamms bei gleichzeitiger Darreichung von Paraldehyd subcutan und Adrenalin intravenös sowie intracisternal für das ACh. Werte, die einerseits innerhalb des Bereiches der bei unbehandelten Tieren ermittelten Befunde liegen, und andererseits sicher außerhalb der Streuung der bei alleiniger Verabreichung von Adrenalin erzielten Ergebnisse fallen. Allerdings reicht der antagonistische Einfluß des Paraldehyds in der gewählten Dosierung nur bis zu einer gewissen Höhe der Adrenalindosierung, wie die Versuche bei intravenöser Injektion von 100 γ Adrenalin zeigen.

Im Bereich der Hirnrinde ist ebenfalls ein deutlicher Einfluß des Paraldehyds im Sinne einer schützenden Wirkung gegenüber Adrenalin festzustellen. Bei den Versuchen mit intravenöser Darreichung kleinerer Adrenalindosen läßt sich sogar bei statistischer Auswertung dieses Ergebnis sicherstellen. Auch bei intracisternaler Applikation von Adrenalin

liegt der ACh.-Gehalt der Hirnrinde bei gleichzeitiger Darreichung von Paraldehyd weit über der durch Adrenalin allein ausgelösten Minderung der ACh.-Werte. Der sichere Beweis für einen derartigen Einfluß des Adrenalins auf die Hirnrinde konnte aus den vorliegenden Befunden allerdings nicht erbracht werden; vermutlich beruht das auf der geringen Anzahl von Einzeluntersuchungen in beiden Versuchsreihen, da wir aus äußeren Gründen den Verbrauch an Tiermaterial beschränken mußten.

Das Ergebnis der antagonistischen Beeinflussung der Adrenalinwirkung auf den ACh.-Gehalt des Z.N.S. durch Paraldehyd steht in völliger Übereinstimmung zu den Befunden Feglers und Mitarbeiter[3, 4], die durch eine Dialnarkose die Herabsetzung des ACh.-Gehalts durch Strychnin verhindern konnten. Fegler und seine Mitarbeiter betonen in ihren Arbeiten, daß zur Beurteilung der Strychnin- und Dialwirkung nicht die absoluten ACh.-Werte, sondern ausschließlich die Vergleichswerte der am gleichen Testmuskel ausgeführten Versuche herangezogen werden dürfen. Wir haben, um den Vergleich zwischen den Ergebnissen dieser Autoren und den eigenen Befunden besser durchführen zu können, die von diesen Untersuchern angeführten Einzelwerte der im Rahmen dieser Arbeit von uns benutzten statistischen Auswertung unterzogen. Es ergab sich dabei für insgesamt 19 unbehandelte Tiere im Hirnstamm und Rückenmark ein mittlerer ACh.-Gehalt von $4{,}9 \pm 0{,}34\,\gamma$/g. Unter dem Einfluß von 0,15 mg/kg Strychnin sank das ACh. auf $3{,}1\,\gamma \pm 0{,}21$ im Mittel. Die Differenz der beiden Mittelwerte beträgt — 1,8 mit einem mittleren Fehler von $\pm 0{,}41$; das bedeutet bei der großen Versuchszahl einen eindeutigen Unterschied im Sinne einer Minderung des ACh. durch Strychnin. Nach alleiniger Vorbehandlung mit Dial blieb der ACh.-Gehalt unverändert, der Mittelwert betrug $4{,}6\,\gamma \pm 0{,}4$ und die Differenz gegenüber der Norm $— 0{,}3 \pm 0{,}55$. Bei gleichzeitiger Verabreichung von Dial und Strychnin 0,15 mg kg findet sich ein ACh.-Gehalt von $5{,}4\,\gamma \pm 0{,}8$, also sogar ein etwas höherer Mittelwert, als bei unbehandelten Tieren. Die Erhöhung fällt aber, wie die Differenz $+ 0{,}5 \pm 0{,}75$ ergibt, noch in die normale Schwankung.

Es findet sich also eine absolute Übereinstimmung im Ausfall der Befunde dieser Untersucher zu den eigenen Versuchsergebnissen.

Im Gegensatz zu der Auffassung Feglers und Mitarbeiter sind bei der Berechnung der Mittelwerte ihre Befunde mit Tetanustoxin, denen diese Autoren eine Wirkung auf den ACh.-Gehalt im Sinne einer Vermehrung der ACh.-Menge zusprechen, nicht als genügend sicher zu bezeichnen.

Antagonistische Versuche mit Ergotamin.

Tabelle 8. ACh.-Äquivalente in γ/g Nervengewebe.

Ergotamin Dosis mg/Tier	Adrenalin γ/Tier	Intracisternal		Intravenös	
		Hirnrinde	Hirnstamm	Hirnrinde	Hirnstamm
0,25	10	0,15	1,0		
0,25	50			0,5	1,3
0,25	100			0,5	1,0
1,0	50	0,2	1,0	0,25	2,0
Mittelwert		$0{,}17 \pm 0{,}02$	1,0	$0{,}42 \pm 0{,}1$	$1{,}4 \pm 0{,}29$
Differenz/Norm		$-0{,}93 \pm 0{,}47$	$-3{,}1 \pm 0{,}89$	$0{,}68 \pm 0{,}38$	$-2{,}7 \pm 0{,}83$
Differenz/Adrenalin allein		$-0{,}15 \pm 0{,}14$	$-0{,}2 \pm 0{,}22$	$+0{,}1 \pm 0{,}12$	$-0{,}2 \pm 0{,}41$

Nach Vorbehandlung mit Ergotamin in Dosen von 0,25 und 1 mg/Tier ist im Gegensatz zu den Ergebnissen mit Paraldehyd eine Beeinflussung des Adrenalineffektes auf den ACh.-Gehalt des Z.N.S. nicht nachweisbar. Sowohl bei intravenöser wie intracisternaler Injektion von Adrenalin bewegt sich die Menge an ACh. im Hirn außerhalb der bei unbehandelten Tieren ermittelten Werte. Sie fällt vielmehr eindeutig in den Bereich jener Werte, die unter dem alleinigen Einfluß des Adrenalins erzielt wurden.

Der dämpfende Einfluß des Narkoticums und das Fehlen einer Gegenwirkung trotz einer Änderung der peripheren Reaktionslage dürfte u. E. eine weitere Bestätigung bieten für die Auffassung, daß zentrale Vorgänge bei bestimmten vegetativen Pharmaca eine Rolle spielen.

III.

In einer letzten Versuchsreihe fanden sich zudem noch weitere Belege zugunsten der Annahme zentraler Angriffspunkte. Auch diese Versuche befassen sich wiederum speziell mit Adrenalin. Zugleich konnten hierbei die bisher besprochenen Untersuchungen in Hinblick auf die Resultate, die bei intravenöser Darreichung der Pharmaca in einem Teil der Versuche erzielt wurden, erweitert werden. Die Anregung zu dieser dritten Versuchsreihe gab der zunächst eigenartig anmutende Befund, daß Adrenalin bei intravenöser Injektion selbst in relativ kleinen Dosen zu einer Beeinflussung des ACh. im Bereich des Hirnstammes führt.

Die Frage nach zentralen Angriffspunkten ist gerade beim Adrenalin bereits mehrfach erörtert worden. Insbesondere hat man sich bemüht zu entscheiden, ob die Änderung der Körperwärme, die häufig unter Adrenalin einsetzenden Atemhemmung und die Verlangsamung des Pulses als Folge einer direkten zentralen Wirkung zu deuten sind. Diese Fragen haben in jüngster Zeit weitgehend eine Klärung gefunden, und zwar dahingehend, daß der Adrenalineffekt auf das Z.N.S. reflektorisch über den Sinus Caroticus ausgelöst wird. So konnte Heymans[20] keine Spur einer Adrenalinwirkung auf den Kreislauf in Experimenten feststellen, bei denen Adrenalin in den Kopfkreislauf eines Hundes injiziert wurde, dessen Kopf unter Ernährung von einem Spendertier vom zugehörigen Rumpf völlig getrennt war, einzig unter Belassung der beiden Vagi, so daß damit ein Übertritt des Adrenalins aus dem Kopfkreislauf in den allgemeinen Körperkreislauf ausgeschlossen war. In weiteren Versuchen[21] konnte von ihm zudem gezeigt werden, daß die Erregung des Vaguszentrums durch Adrenalin lediglich reflektorisch von dem primär infolge des Blutdruckanstiegs gedehnten Carotissinus ausgelöst wird. Ebenso bewiesen Heymans und Boukaert[22] sowie Wright[23], daß die Wirkung des Adrenalins auf das Atemzentrum

[20] Heymans, C.: Erg. Physiol. **28**, 244 (1929). — [21] Heymans, C.: Arch. int. Pharmaco-Dynam. **35**, 269 (1929). — [22] Heymans, C., u. J. J. Boukaert: J. Physiol. (Brit.) **69**, 254 (1930). — [23] Wright, S.: J. Physiol. (Brit.) **69**, 493 (1930).

reflektorisch zustande kommt. Eine Entnervung von Herz-Aorta und Carotis Sinus verhindert trotz Druckanstieg und vermehrter Durchblutung des Z.N.S. den Eintritt der Adrenalinapnoe. Dagegen bleibt die Änderung der Atmung durch Adrenalin erhalten bei Isolierung des Kopfkreislaufes, wenn Adrenalin in den Körperkreislauf des zum Testkopf gehörigen, nur an den Vagi hängenden Rumpfes gebracht wird.

In Anlehnung an diese Angaben der Literatur war es die Aufgabe der eigenen Versuche, festzustellen, ob eine durch intravenöse oder intracisternale Injektion von Adrenalin hervorgerufene Änderung im Gehalt des Z.N.S. an ACh. auch diesem Mechanismus unterworfen ist, und somit der Einfluß des Adrenalins auf die nervösen Zentren und ihren ACh.-Gehalt lediglich über den Carotis Sinus zustande kommt.

Vorversuche an Tieren, bei denen eine Entnervung von Herz-Aorta und Carotis Sinus beiderseits in zwei Sitzungen operativ vorgenommen wurde, ergaben zunächst, daß durch den operativen Eingriff selbst im Gehalt des Z.N.S. an ACh. keine Änderung gegenüber normalen Tieren bewirkt wird.

Versuche nach operativer Ausschaltung des Carotissinus.

Tabelle 9. ACh.-Äquivalente in γ/g Nervengewebe.

	Hirnrinde	Hirnstamm
	0,5 0 5	4,0 2,5
Mittelwert	0,5	$3,2 \pm 0,71$
Differenz/Norm.	$-0,6 \pm 0,46$	$-0,9 \pm 0.99$

Carotissinus-Ausschaltung und Adrenalineinfluß.

Adrenalin γ/Tier	Intracisternal		Intravenös	
	Hirnrinde	Hirnstamm	Hirnrinde	Hirnstamm
50 100	0,15	1,5	0,5 0,7	5,0 3,0
Mittelwert			$0,6 \pm 0,1$	$4,0 \pm 1,0$
Differenz/Norm	$-0,95$	$-2,6$	$-0,5 \pm 0,47$	$-0,1 \pm 1,0$
Differenz/Adrenalin beim Normaltier	$-0,17$	$+0,3$	$-0,28 \pm 0,14$	$+2,4 \pm 0,75$

In einigen orientierenden Versuchen wurden sodann gleichartig operierte Tiere dem Einfluß intravenös und intracisternal injizierten Adrenalins ausgesetzt. Bei diesen Versuchen zeigte es sich, daß bei intracisternaler Injektion des Adrenalins wiederum eine Herabsetzung des ACh.-Gehalts in den gleichen Ausmaßen wie bei normalen, mit Adrenalin behandelten Tieren eintritt. Bei intravenöser Injektion von Adrenalin finden sich dagegen bei operierten Tieren ACh.-Werte in Hirnrinde und Hirnstamm, die denen völlig unbehandelter Tiere entsprechen, und weit

außerhalb der Befunde liegen, die unter dem Einfluß gleich hoher intravenös verabreichter Adrenalingaben bei unoperierten Tieren erzielt wurden. Die statistische Auswertung kann diese Resultate nur erhärten.

Somit stellen sich unsere Befunde in Parallele zu den Beobachtungen der obengenannten Autoren, nach denen bei intravenöser Injektion von Adrenalin eine Wirkung auf das Z.N.S. nur als die sekundäre Folge einer Reizung bestimmter zentripetal verlaufender Nerven aufzufassen ist. Darüber hinaus erweitern die eigenen Befunde die bisher vorliegenden Angaben der Literatur insofern, daß sie eine Deutung für das zentral einsetzende Geschehen durch den Nachweis der Schwankungen im ACh.-Gehalt abzugeben vermögen. Außerdem enthält auch die letzte Versuchsreihe neue Unterlagen für die eigene Fragestellung. Durch das unterschiedliche Ansprechen des ACh.-Gehalts operierter Tiere auf eine intravenöse und intracisternale Injektion von Adrenalin bietet sie einen weiteren Beleg dafür, daß bei intracisternaler Zufuhr dem Adrenalin im Gegensatz zur intravenösen Applikation direkte Angriffspunkte an den v. Z. zukommen. Schließlich ergibt sich aus den an operierten Tieren erhobenen Befunden noch die weitere Folgerung, daß Adrenalin nicht bei jeder Form der Darreichung einen direkten Einfluß auf zentralnervöse Elemente auszuüben vermag; primär zentral ausgelöste Wirkungen kommen vielmehr durch Adrenalin nur zustande, wenn seine Einführung in den Organismus unter Umgehung des Gefäßsystems mittels intracisternaler Injektion in die unmittelbare Nähe des Z.N.S. erfolgt.

Zusammenfassung.

In Fortsetzung früherer Untersuchungen konnten weitere Belege für die Auffassung erbracht werden, daß einem Teil der am vegetativen System angreifenden Pharmaca bei der Injektion in die Cisterne zentrale Angriffspunkte zukommen. Als Test für das Einsetzen zentral ausgelöster Wirkungen dient die Bestimmung des ACh.-Gehalts von Hirnstamm und Hirnrinde bei Kaninchen und sein Verhalten unter dem Einfluß vegetativer Pharmaca bei der Zufuhr dieser Substanzen auf dem Wege über die Blutbahn und durch Injektion in die Cisterne.

In Vorversuchen wird an unbehandelten Tieren der Gehalt an ACh. für Hirnstamm und -rinde festgelegt. In den Hirnstammpartien finden sich stets höhere ACh.-Werte als in den Rindenabschnitten.

Das Einsetzen einer Wirkung vegetativer Pharmaca gilt als gesichert, falls die bei unbehandelten und vorbehandelten Tieren auftretenden Unterschiede im ACh.-Gehalt sich auch bei statistischer Auswertung der Einzelbefunde als eindeutig erweisen. Unter dieser Bedingung läßt sich eine Beeinflussung des ACh.-Gehalts im Bereich des Hirnstamms bei der intracisternalen Injektion von Pilocarpin und Adrenalin in höherer Dosierung mit Sicherheit nachweisen. Weiter kommt es zu einer Minderung des ACh. bei intracisternaler Zufuhr kleiner Ergotamingaben, während bei höheren

Ergotamindosen diese Wirkung fehlt. Für die Deutung dieses unterschiedlichen Verhaltens des Ergotamins je nach der Dosierung wird auf die Möglichkeit einer Mitbeteiligung der Cholinesterase hingewiesen.

Eine Herabsetzung der ACh.-Werte in den Hirnrindenabschnitten ist in eindeutiger Form nur bei intracisternaler Injektion von Ergotamin in niedriger Dosierung nachweisbar. Für Adrenalin ist auf Grund des vorliegenden Untersuchungsmaterials ein gleichartiger Einfluß mit hoher Wahrscheinlichkeit anzunehmen.

Bei intracisternaler Applikation von Azetylcholin bleibt eine Beeinflussung des ACh. im Bereich des Z.N.S. völlig aus.

Ebenso erweist sich Azetylcholin bei intravenöser Injektion wirkungslos. Das gleiche gilt bei intravenöser Zufuhr auch für Pilocarpin und Ergotamin. Eine Ausnahmestellung nimmt dagegen Adrenalin ein, das auch bei intravenöser Darreichung eine Änderung der ACh.-Werte im Z.N.S. bewirkte. Dieser Einfluß des Adrenalins stellt jedoch nur die sekundäre Folge eines über den Sinus Caroticus laufenden nervösen Erregungsvorganges dar. Bei Ausschaltung von Herz-Aorta und Carotissinus fehlt jede Wirkung intravenös verabreichten Adrenalins auf die zentralnervösen Elemente. Bei intracisternaler Zufuhr von Adrenalin erfolgt dagegen trotz Entnervung des Carotissinus eine Minderung des ACh.-Gehalts im Z.N.S. in den gleichen Ausmaßen wie bei nichtoperierten Tieren.

In einer weiteren Versuchsreihe werden antagonistische Versuche durchgeführt. Hierbei erzielt Paraldehyd eine Hemmung des Adrenalineffektes auf den Gehalt des Hirnstammes an ACh. Diese Gegenwirkung des Paraldehyds tritt bei intravenöser und intracisternaler Einführung des Adrenalins ein. Eine periphere Hemmung des sympathischen Systems durch Ergotamin vermag der Beeinflussung der ACh.-Werte im Z.N.S. durch Adrenalin nicht vorzubeugen.

Berichtigung.

Zur Arbeit Bauer und Reindell: Zur Kenntnis der Kumulierungserscheinungen der Digitalisglykoside, VI. Mitteilung, Naunyn-Schmiedebergs Arch. 191, S. 329, letzter Absatz, betr. unsere Zitierung über die akute Verengung der Coronarien durch Strophanthin.

Nach einer persönlichen Mitteilung von Prof. Hildebrandt sowie einer soeben erschienenen Arbeit von K. H. Osterwald, Strophanthin und Coronardurchblutung[1], nehmen Hildebrandt und Osterwald auf Grund ihrer Versuchsergebnisse an, daß keine akute Verengung der Coronarien durch Strophanthin stattfindet.

[1] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **190**, 335 (1938).

Aus der medizinischen Universitätsklinik Bonn.

Homöopathische Arzneimittel-Nachprüfungen.

Von

P. Martini,

in Gemeinschaft mit **L. Brückmer, K. Dominicus, A. Schulte** u. **A. Stegemann.**

(Eingegangen am 11. Januar 1938.)

II. Bryonia.

Die Bryonia, Zaunrübe, gehört zur Familie der Cucurbitaceen (rankende Kräuter), die in ganz Europa heimisch sind. Die Wurzel ist rübenförmig und wird bis zu 3 kg schwer. Sie enthält die Glykoside Bryonin und Bryonidin[1]; das erstere soll ohne besondere Wirkung sein, während das letztere eine sehr starke örtliche Reizung an Schleimhäuten hervorruft, und ähnlich wie andere Glykoside abführende Wirkung hat[2]. Der Saft der frischen Rübe, der widerlich und scharf schmeckt, verursacht auf der Haut Entzündung mit Blasenbildung[2, 3]. Bei innerlicher Verabreichung erzeugt der Saft gastroenteritische Erscheinungen, wie Erbrechen, wässerige Stühle, starke Leibschmerzen (Kunkel[2], Schulz[3], Lewin[4]). Nach Einnahme von etwa 30 g des Wurzelsaftes sollen Todesfälle beobachtet worden sein (Orfila[5], Lewin[4]), bei Hunden schon nach 15 g. Früher kam Bryonia äußerlich als Volksmittel bei rheumatischen und gichtigen Beschwerden zur Anwendung, daher auch der Name „Gichtrübe"; innerlich wurde es als Purgativum und Emeticum gebraucht. Heute wird es nurmehr von der Homöopathie verwendet, und zwar bei Krankheiten der Schleimhäute, besonders der inneren Hohlsäcke (Pleura, Pericard, Peritoneum, Meningen, Gallenblase) und der in ihnen liegenden Organe, wie der Lunge, Luftröhre, Magen und Darm.

Das homöopathische Arzneibild der Zaunrübe wurde außer von Hahnemann[6] geprüft von Piper[7], Lembke[8], Price[9], Attomyr[10] und von Zlatarowitch[11]. Die verwandten Dosen liegen sehr weit auseinander: Piper stieg von 60 bis auf 200 Tropfen Urtinktur, Lembke gab 10—60 Tropfen an 5 von 21 Tagen. Die weitaus umfassendste Prüfung ist Zlatarowitch und seinen 13 Mitprüfern zu verdanken. Diese letztere Prüfergruppe prüfte in allen Fällen mit Urtinktur, und zwar teilweise bis zu 300 Tropfen = etwa 15 ccm der Tinktur, teilweise aber auch mit Verdünnungen von der 1. bis zur 203. Potenz. Bei den großen Urtinktur-

---

[1] Mankowsky-Kobert: Historische Studien aus dem physiol. Institut Dorpat **2**, 143 (1890). — [2] Kunkel: Handbuch der Toxikologie II, S. 925. — [3] Schulz: Vorlesung über Wirkung u. Anwendung d. deutschen Arzneipflanzen. S. 209, Neudruck Leipzig 1929. — [4] Lewin: Gifte und Vergiftungen. — [5] Orfila: Zitiert bei Kunkel. — [6] Hahnemann: Reine Arzneimittellehre. — [7] Piper: Allg. homöop. Z. **13**, 371 (1838). — [8] Lembke: Neue Z. f. homöop. Klinik **4**, 75 (1859). — [9] Price: N. Arch. f. homöop. Heilkunst. **1**, 183 (1822). — [10] Attomyr: Ebenda **1** und **2** (1822—1823). — [11] v. Zlatarowitch: Z. d. Vereins d. homöop. Ärzte Österreichs **3** (1847). (Neudruck siehe ausgewählte Arzneimittelprotokolle v. Gisevius u. Rabe: Homöop. Zentralverlag Berlin, S. 14. 1926. Reihe I, H. 1 u. 2).

verabreichungen kommt es fast immer zu dem auch der Toxikologie bekannten gastroenteritischen Bild und daneben zu einer unübersehbaren Fülle anderer, meist unangenehmer Sensationen. In dem von Allen[12] zusammengestellten Arzneibild fehlt kaum irgendein überhaupt denkbares Symptom - er bedarf zu ihrer Aufzählung nicht weniger als 52 kleingedruckte Seiten.

Die gastroenteritischen Erscheinungen bei großen Dosen sind toxikologisch anerkannt und unumstritten: Aufstoßen, Übelkeit bis zum Erbrechen, Ekel vor Speisen, Kollern und Völle im Leib, Diarrhöen, schleimige Stühle, auch Stuhlträgheit, Brennen usw. am After usw. Eine Reihe anderer Mißgefühle wie unruhiger Schlaf, leichter Ikterus, allgemeine Mattigkeit und Unbehagen, wohl auch Kopfbeschwerden, Frösteln wiederholen sich in den Prüfungsprotokollen mit einiger Regelmäßigkeit und sind auch schon allein als Folgeerscheinungen der gastroenteritischen Veränderungen glaubhaft.

Eine 3. Gruppe von Symptomen, die in den Protokollen eine Rolle spielen und dem homöopathischen Arzneibild der Zaunrübe (Gichtrübe!) zugesellt werden, erscheinen dagegen sehr viel weniger vertrauenswürdig. Nicht nur daß sie in den Protokollen nur vereinzelt und unregelmäßig erscheinen - sie werden wie z. B. die „rheumatischen Erscheinungen" auch bei so großen Verdünnungen berichtet (z. B. Gliederschmerzen von dem Prüfer Dr. Wachtl[13] bei D_6, Steifigkeit in der rechten Hand von Wilh. Huber[13] bei D_6, Gelenkstiche von Dr. Arneth[13] bei D_{202}!), daß es sehr schwer ist, bei diesem Symptom nicht an die suggestive Kraft der „Gicht"-Rübe zu denken. Daß die bei D_{203} von Arneth beobachteten massenhaften Symptome wie Druckschmerz in der Nabelgegend, heftiger Stuhldrang, Stirnkopfschmerz, pappiger Geschmack im Mund usw. in keinem ursächsächlichen Zusammenhang mit der Bryoniaverabreichung standen, wird heutzutage kaum mehr bestritten werden.

Versuchsanordnung.

Zu unseren Arzneimittelprüfungen (Versuchsleiter L. Brückmer[14]) wurden Milchzuckerstreukügelchen von D_{10}, D_5, D_3, D_1 sowie Urtinktur (D_0) verwandt. Die Urtinktur hat einen Arzneigehalt von 50%, d. h. daß zu 1 Teil des aus der frischen Bryoniawurzel gewonnenen Saftes je 1 Teil 90%iger Alkohol hinzugefügt ist. 1 ccm der Urtinktur wiegt 0,841 g. Die Mittel wurden den einzelnen Prüfern (Versuchspersonen) in steigender Dosis mehrere Wochen hindurch gegeben. Ähnlich wie bei den Untersuchungen über Sepia wurden den Prüfern im Beginn der Prüfung oder öfters zwischendurch reine Milchzuckerkügelchen (als Scheinmittel) verabreicht, um suggestive Täuschungsmöglichkeiten, Zufallswirkungen oder auch Milchzuckerfolgen auszuschalten. Als Scheinmittel gegenüber der Urtinktur wurde Aqua dest. verwandt, die durch Geschmacks- und Farbkorrigentien (Vinum

[12] Allen: F. T. Encyklopedia of pura materia medica. Bd. I. Philadelphia 1877. — [13] Veröffentlicht von Zlatarowitch l. c. — [14] Siehe auch L. Brückmer: Homöopathische Arzneimittelprüfung mit Bryonia u. Secale cornutum. Inaug.-Diss. Bonn 1937.

chinae, der in hoher Verdünnung gelblich aussieht wie die Urtinktur und bitter schmeckt), der Urtinktur ähnlich gemacht worden war.

Alle Prüfer wurden durch Handschlag verpflichtet, nur die reine Wahrheit zu berichten. Sie haben in ihrer gewohnten Lebensweise nichts geändert, höchstens einmal bei „ungewohnter Lebensweise" mit dem Mittel ausgesetzt. Die bei den Personalien der einzelnen Prüfer vermerkten Skizzierungen des Temperaments entstammen Angaben der Versuchspersonen selbst, so wie man sie angeblich in ihrer Umgebung einschätzte; selbstverständlich haben sie nur einen sehr beschränkten Wert. In der Vorgeschichte wurden überstandene Krankheiten nur dann als etwas Besonderes vermerkt, wenn mit Nachwirkungen gerechnet werden konnte.

Die Mittel wurden morgens nüchtern, mittags und abends vor dem Essen eingenommen. Beim Auftreten von Erscheinungen sollte bis zum Abklingen derselben mit dem Mittel ausgesetzt werden.

Versuchsprotokolle.

1. Prüfer H. U., cand. med., 25 Jahre, Größe 1,77 m, Gewicht 68 kg, Vorgeschichte ohne Bes.; Temperament „phlegmatisch-(cholerisch)". Täglich 12—14 h Arbeit. 1,5 Liter Bier wöchentlich, 3 Zigaretten, 2—3 Tassen Kaffee, 2 Tassen Tee täglich.

Beobachtungsdauer 39 Tage, davon 29 Bryonia.

Geprüft: D_{10} (3 mal 5 Glob. = etwa 0,000 000 000 001 g tägl.) 3 Tage, D_5 (3 mal 5 Glob.) 7, D_3 (3 mal 5 Glob.) 3, D_1 (3 mal 5 Glob.) 16 Tage. Anschließend die 10tägige Scheinmittelperiode.

Der Prüfer gab je an 1 Tag der Bryonia D_5- und der D_3-Periode eine Beschwerde an, und zwar in D_5 abends 1 h nach dem Essen leichte kolikartige Schmerzen in der linken Oberbauchseite, in D_3 am 1. Tag gereizte Stimmung. 8 Tage nach Beginn der 16tägigen D_1-Periode wachte er nachts mit starken Leibschmerzen auf, die $^1/_4$ h anhielten. In den sonstigen Vergleichszeiten keine Erscheinungen.

2. Prüfer F. C., cand. med., 23 Jahre, Größe 1,76 m, Gewicht 69 kg. 1923 und 1925 allgemeine Furunkulose. 1928 Schlattersche Krankheit. 1930 schwere Gastroenteritis, seither empfindlicher Magendarmtrakt. Seit 2 Jahren angeblich sehr nervös. Temperament „cholerisch-sanguinisch". 6—8 h Arbeit täglich, 1—2 Liter Bier, 15—20 Zigaretten in der Woche, 5 Tassen Kaffee täglich, sehr wenig Tee.

Beobachtungsdauer 48 Tage, davon 21 Tage Bryonia.

Geprüft: D_{10} 3, D_5 7, D_3 5, D_1 6 Tage lang, jeweils 2 mal 5 Glob.

Sowohl während der Bryonia- wie auch während der Scheinmittelperioden wurden täglich Beschwerden angegeben, und zwar beide Male immer vom gleichen Charakter: Vermehrte Defäkation; während der Bryoniaperiode D_5 waren die Stühle außerdem dünnbreiig, während der Pseudomitteleinnahme (3 mal 10 Glob. Milchzucker) traten dafür stärkere schmerzhafte Erscheinungen auf. Schmerzen im Unterleib und am Scrotum.

3. Prüfer A. Sch., cand. med., 25 Jahre, Größe 1,75 m, Gewicht 70 kg. Vorgeschichte o. B. Neigung zu gastrischen Erscheinungen. Arbeitet 8—10 h täglich. Kein Alkohol, 10 Zigaretten, 4 Tassen Kaffee, 2 Tassen Tee täglich. Temperament „sanguinisch-cholerisch".

Beobachtungsdauer 41 Tage, davon 21 Tage Bryonia.

Geprüft: D_{10} 3, D_5 7, D_3 5, D_1 6 Tage, jeweils 3 mal 5 Glob.

Während D_{10} und D_5 gegeben wurden, keinerlei Angaben, während der 5tägigen D_3-Periode trat am 3. Tag vermehrte Defäkation auf und hielt nicht nur während der folgenden 6tägigen D_1-Periode, sondern auch während der anschließenden 20tägigen Pseudomittel- (Milchzucker-Glob.-) Periode an. Von irgendwelchen der Bryonia vorbehaltenen Symptomen war nichts zu bemerken.

4. Prüfer H. H., cand. med., 21 Jahre, Größe 1,72 m, Gewicht 59,5 kg. 1925 Polyarthritis. Neigung zu Schnupfen. Temperament „sanguinisch". Arbeitet 5h täglich, sehr wenig Alkohol, kein Tabak, Kaffee 5 Tassen täglich, Tee nichts.

Beobachtungsdauer 52 Tage, davon 20 Tage Bryonia.

Geprüft: D_{10} (3mal 5 Glob.) 3 Tage, D_1 (3mal 5 Glob.) 7, D_1 (3mal 10 Glob.) 10 Tage.

Während der beiden ersten zusammen 10tägigen D_{10}- und D_1-Perioden traten keinerlei Erscheinungen auf, außer einmal unruhiger Schlaf durch drückende Magenschmerzen. In der Vergleichszeit der Pseudomittel wurden mehr und verschiedenartige Symptome angegeben: Einmal unruhiger Schlaf, Druckgefühl in der Magengegend, Spannung im Oberbauch, Blähungen, vermehrte Defäkation usw. In der zweiten D_1-Periode (im Anschluß an die Scheinmittelperiode) täglich voluminösen Stuhl.

5. Prüfer Frl. M. H., cand. med., 22 Jahre, Größe 1,65, Gewicht 53 kg. Temperament „sanguinisch-melancholisch". Vorgeschichte o. B. Arbeitet 7—8h täglich. Kein Alkohol, noch Tabak, 1 Tasse Kaffee, 3—4 Tassen Tee täglich.

Beobachtungsdauer 41 Tage, davon 18 Bryoniatage.

Geprüft: D_5 7, D_3 5, D_1 6 Tage je 3mal 5 Glob.

Hier fällt die vollkommene Symptomlosigkeit während der Bryoniaperiode auf, während der Prüfer während der Scheinmittelperioden eine Fülle von Beschwerden angibt (vermehrte Defäkation, Leibschmerzen bes. in Ruhe, Völle und Spannungsgefühl im Leib, hartnäckige Schlaflosigkeit, große Müdigkeit am Tage, große Appetitlosigkeit; nach Abschluß der Prüfungszeit wieder der gute Schlaf von früher und Heißhunger). Auch eine Nachwirkung der Bryonia ist hier ausgeschlossen.

6. Prüfer Frl. E. S., stud. pharm., 26 Jahre, Größe 1,60, Gewicht 51 kg. Temperament „sanguinisch-cholerisch". Vorgeschichte o. B. Neigung zu Halsentzündung und Bronchitiden. Arbeitet 9—10 h täglich. 1 Liter Bier, 3 Zigaretten in der Woche, 3—4 Tassen Kaffee, 1 Tasse Tee täglich.

Beobachtungsdauer 32 Tage, davon 15 Tage Bryonia.

Geprüft: D_3 5, D_1 10 Tage, jeweils 3mal 5 Glob.täglich; tägliche Arzneimenge bei D_1 etwa 0,02 g.

Während der ganzen Beobachtungszeit wurden lediglich in der D_3-Periode Beschwerden verzeichnet, und zwar trat schon 2h nach der 2. Einnahme von 5 Glob. D_3 unangenehmes Ziehen und Völlegefühl im Unterleib auf, Beschwerden, die 2 Tage anhielten. Es wurde deshalb 1 Tag pausiert, und als dann mit der Einnahme der gleichen Dosis wieder fortgefahren wurde, stellten sich keinerlei Beschwerden mehr ein (als die Beschwerden auftraten, betrug die tägliche Arzneimenge 0,0001 g). Auch während der späteren 10tägigen D_1-Periode traten keinerlei Beschwerden auf. Das auffällig rasche Erscheinen der Symptome sofort nach Beginn der Einnahme und das Nichtwiederauftreten bei späteren Gaben gleicher und wesentlich höherer Dosis lassen einen ursächlichen Zusammenhang als höchstunwahrscheinlich erscheinen.

7. Prüfer Dr. med. H. S., 26 Jahre, Größe 1,73, Gewicht 77,5 kg. Temperament „sanguinisch". Neigung zu Erkältungskrankheiten und Furunkulose im Gesicht und Nacken. Arbeitet 10—12 h täglich; 0,7 Liter Bier, 2 Zigaretten, 2 Tassen Kaffee täglich.

Beobachtungsdauer 69 Tage, davon 54 Tage Bryonia.

Geprüft: D_{10} (3mal 10 Glob.) 7, D_5 (3mal 10) 5, D_3 (3mal 15) 8, D_1 (3mal 15) 20 Tage; Urtinktur (3mal 5 Tr.) — 0,16 g täglich 6 Tage; (3mal 10 Tr.) = täglich 2,32 g 4 Tage; (3mal 15 Tr.) = täglich 0,5 g 2 Tage; (3mal 20) = täglich 0,63 g 0 Tage.

Die kurze, nur 8tägige Scheinmittelperiode, die noch dazu ganz im Beginn des Versuchs steht, war ganz beschwerdefrei; ebenso die unmittelbar folgende 7tägige D_{10}- und 5tägige D_5-Periode. Unter D_3 war der Prüfer 2 Tage lang durch vermehrte Defäkation, krampfartige Magenschmerzen mit Übelkeit und Kopfschmerz belästigt. Die vermehrte Defäkation und das große Müdigkeitsgefühl hielten während der D_1 weiter an und auch noch am 1. Tag der Urtinktur (21. August). Der Prüfer erklärte aber auf das bestimmteste, er habe sich gerade zuvor auf dem Lande bei einer schweren gastroenteritischen Störung infiziert. Ganz besonders merkwürdig ist aber, daß bei den nun einsetzenden Urtinkturmengen gar keine ähnlichen Erscheinungen mehr eintraten. Die ganzen Beschwerden in den letzten 15 Urtinkturtagen erschöpfen sich in 3 unruhigen Nächten mit störenden Träumen.

8. Prüfer O. v. R., Bankangestellter, 24 Jahre, Größe 1,79, Gewicht 70 kg. Temperament „cholerisch-sanguinisch". Vorgeschichte o. B. Hat öfters Nasenbluten und neigt zu Bindehautentzündung. Arbeitet 8 h täglich. $1^1/_2$ Liter Bier in der Woche, täglich 2—3 Zigaretten, 1 Tasse Kaffee, 1 Tasse Tee.

Beobachtungsdauer 64 Tage, davon 53 Tage Bryonia.

Geprüft: D_{10} (3mal 10 Glob.) 7 Tage, D_5 (3mal 10 Glob.) 5 Tage, D_3 (3mal 15 Glob.) 12 Tage, D_1 (3mal 15) 20 Tage, Urtinktur (3mal 10 Tr.) 2 Tage, Urtinktur (3mal 15 Tr.) 3 Tage, Urtinktur (3mal 20 Tr.) 4 Tage. An Urtinktur hat der Prüfer insgesamt 10,4 ccm eingenommen, was einer Bryoniamenge von 4,4 g entspricht.

In der gesamten Zeit der Bryoniaeinnahme wurde nur während D_3 eine Angabe gemacht, und auch hier beschränkte sie sich auf „öfteres Aufwachen". Darüber war auch schon zuvor während der Scheinmitteleinnahme einmal geklagt worden, in dieser Zeit außerdem über vermehrte Defäkation.

9. Prüfer F. R., cand. med., 24 Jahre, Größe 1,83, Gewicht 65 kg. Temperament „sanguinisch-cholerisch". Neigung zu Ekzembildung an den Händen, sonst o. B. Arbeitet 6—8 h täglich, in der Woche 1 Liter Bier, Tabak 0, Kaffee täglich 2 Tassen, Tee 0.

Beobachtungsdauer 65 Tage, davon 53 Tage Bryonia.

Geprüft: D_{10} (3mal 10 Glob.) 7, D_5 (3mal 10 Glob.) 5, D_3 (3mal 15 Glob.) 11, D_1 (3mal 15 Glob.) 20, Urtinktur (3mal 10 Tr. = etwa 0,3 g Bryonia) 1 Tag, (3mal 15 Tr. = etwa 0,45 g Bryonia) 1, (3mal 20 Tr. = etwa 0,6 g Bryonia) 4, (2mal 15 Tr.) 1, (3mal 25 Tr. = etwa 0,75 g Bryonia) 2 Tage.

Während D_{10} und D_5 beschwerdefrei. Beschwerden, die während D_3 auftraten, waren nur vorübergehender Natur; sie verschwanden während der Weitereinnahme der gleichen Dosis und die vollkommene Symptomlosigkeit während der 20tägigen D_1- und der 9tägigen Urtinkturperiode machen eine ursächliche Beziehung zwischen D_3-Einnahme und den Beschwerden ganz unwahrscheinlich.

10. Prüfer Dr. med. K. Cl., 27 Jahre, Größe 1,83, Gewicht 80 kg. Temperament „sanguinisch-phlegmatisch". Neigung zu Angina, sonst o. B. Arbeitet 8—10 h täglich, in der Woche $1^1/_2$ Liter Bier, 3 Zigaretten, 3 Tassen Kaffee täglich, Tee 0.

Beobachtungsdauer 35 Tage, davon 18 Tage Bryonia.

Geprüft: D_{10} 5, D_5 6, D_3 7 Tage, jeweils 3mal 10 Glob.

In der Scheinmittelperiode wurden 3mal täglich 5 Tr. Aqua dest. verabreicht das durch Zusatz einer sehr kleinen Menge von Vinum Chinae in Farbe und Geschmack der Urtinktur ähnlich gemacht worden war. Während dieser 8tägigen Scheinmittelperiode hatte der Prüfer täglich 2 h nach der Einnahme der Pseudo-Urtinktur Sodbrennen. Während der Bryonia-Verabreichung keinerlei Erscheinungen.

11. **Selbstversuch des Prüfungsleiters.** 24 Jahre, Größe 1,81 m, Gewicht 64 kg, 1935 schwere Angina, seither Neigung zu Halsentzündungen; häufige Augenlidentzündungen und seit Jahren Neigung zu Verstopfung, sonst o. B.

Tabe

| Geprüft bei den Prüfern: | Symptomenhäufigkeit bei verschiede | | |

tenzen von Bryonia.			
n			
D_5 I II III . V . VII VIII IX X	D_{10} I II III IV . . VII VIII IX X	Insgesamt	Symptomenhäufigkeit bei Scheingaben insgesamt
49	38	302	146
	$IV^{1}/_{3}$		$[IV\ ^{1}/_{21}]\ V^{10}/_{23}\ VIII^{2}/_{7}$
			$V^{10}/_{26}$
$I^{1}/_{7}$			$II^{2}/_{26}\ [V\ ^{20}/_{23}]$ $V\ ^{5}/_{23}$
	$IV^{1}/_{3}$		$IV\ ^{1}/_{21}\ X\ ^{6}/_{8}$ $IV\ ^{8}/_{21}$ $IV\ ^{7}/_{21}$
$II\ ^{7}/_{7}$	$II^{2}/_{3}$		$II\ ^{16}/_{27}\ III\ ^{20}/_{20}\ V\ ^{3}/_{23}\ VIII\ ^{2}/_{7}$
			$II\ ^{2}/_{27}$
$^{8}/_{49} = 0,16$	$^{4}/_{38} = 0,12$	$^{111}/_{302} = 0,34$ $[^{41}/_{302} = 0,136]$	$^{114}/_{146} = 0,78$ $[^{72}/_{146} = 0,37]$

notienten danach kennzeichnen die Frequenz des Auftretens von Symptomen (Zähler), tenzen genommen hat (Nenner).

e diarrhöischen Symptome („Durchfälle, häufige Stuhlentleerungen") in Abzug, dann

schon aus der nicht mehr kleinen Milchzuckermenge erklärbar waren, ging er am 8. August zu größeren Dosen über; D_1 (bis 1000 Glob. täglich) 31. Urtinktur (bis 240 Tr. täglich) 4 Tage: D_1 (3mal 20 Glob.) 3 Tage, D_1 (3mal 30 Glob.) 3 Tage, D_1 (3mal 40 Glob.) 3 Tage, D_1 (3mal 50 Glob.) 3 Tage, D_1 (3mal 60 Glob.) 3 Tage D_1 (3mal 70 Glob.) 3 Tage, D_1 (3mal 80 Glob.) 3 Tage, D_1 (3mal 100 Glob.) 1 Tag, D_1 (300 Glob.) 2 Tage, D_1 (350 Glob. = etwa 0,23 g Bryonia) 3 Tage, D_1 (400 Glob.)

1 Tag, D_1 (500 Glob. = 0,33 g Bryonia) 1 Tag, D_1 (700 Glob. = etwa 0,5 g Bryonia) 1 Tag, D_1 (1000 Glob. = etwa 0,67 g Bryonia) 1 Tag, Urtinktur 40 Tr. = 0,42 g Bryonia 1 Tag, Urtinktur 120 Tr. = etwa 1,263 g Bryonia 1 Tag, Urtinktur 200 Tr. = etwa 2,1 g Bryonia 1 Tag, Urtinktur 240 Tr. = etwa 2,5 g Bryonia 1 Tag.

Gleich am ersten Tage der D_1-Periode kam es nach Einnahme von 40 Globuli zu stark stechenden Schmerzen in der Magengegend, die etwa $^1/_2$ Stunde anhielten und bei Ruhe und Bewegung gleich stark waren; Magenschmerzen traten später nur mehr zweimal auf, als er einmal 700 Globuli D_1 („beim Erwachsenen leichtes Druckgefühl in der Magengegend") und am Tage darauf 1000 Globuli D_1 („wiederum beim Erwachen leichtes Druckgefühl in der Magengegend mit kolikartigen Schmerzen im Unterleib") genommen hatte. Im übrigen wieder nur öfters, auch nicht durchaus regelmäßig, bald „bessere Defäkation", bald „breiige" oder „dünnbreiige Fäces", einmal auch wässerige Stühle, mehr oder weniger „heftige Flatulenz" vermerkt. Während der Urtinktur-Einnahme aber wurde außer dem „sehr widerlichen Geschmack überhaupt nichts Bemerkenswertes empfunden". Die Magen-Darmerscheinungen während der lang ausgedehnten D_1-Perioden legten eine „gastroenteritische" Bryoniawirkung sehr nahe. Warum blieb diese aber bei den bis viermal größeren Bryoniamengen bei Urtinktur völlig aus? Unser Verdacht, daß es sich bei den Magen-Darmerscheinungen bei der Einnahme der Globuli D_1 nur um Milchzuckerfolgen gehandelt hat, ist sehr groß. Die in diesem Versuch, der nicht unwissentlich durchgeführt wurde, verzeichneten Symptome sind in die Gesamtzusammenstellung der Symptome in Tabelle 1 nicht mit aufgenommen.

Aus den hier wiedergegebenen meist abgekürzten Versuchsprotokollen[15] geht hervor, daß aus den einzelnen Prüfungsergebnissen keine der Bryonia spezifischen Symptome zu entnehmen waren. Wir haben deshalb die Ergebnisse der zehn unwissentlichen Prüfungen tabellarisch zusammengestellt und geordnet entsprechend den in der homöopathischen Literatur enthaltenen Symptomen, die in den Arzneimittellehren von Heinigke[16] und Stauffer[17] ziemlich übereinstimmend anerkannt sind; wir haben uns dabei auf die wichtigsten beschränkt. Der Aufbau der Tabelle entspricht dem der Tabelle 1 unserer Mitteilung über Sepia[18]. Dabei zeigt schon eine grobe Übersicht, daß kein wesentlicher Unterschied der Symptomenverteilung und -häufigkeit zwischen den Bryoniaperioden und den Scheinmittelperioden besteht, zum mindesten keine größere Häufung auf der Bryoniaseite. Nimmt man dazu, daß Bryonia an doppelt so vielen Tagen insgesamt gegeben wurde (302 Tage) wie die Scheinmittel (146 Tage), dann wird es im Gegenteil offenbar, daß die relativ größere Symptomenhäufigkeit während der Verabreichung der letzteren liegt. Das Gleiche ergibt sich bei einer rechnerischen Summierung der Symptome, wie sie in Tabelle 1 durchgeführt ist: Während der 302 Bryoniatage werden insgesamt 110 Symptome gezählt, während der 146 Tage ohne Bryonia bzw. mit Scheinmittel 114 Symptome, die gesamte Scheinmittelzeit ist

[15] Die Originalprotokolle sind sämtlich in der Inaug.-Diss. L. Brückmer: Homöop. Arzneimittelprüfung mit Bryonia und Secale cornutum niedergelegt, Bonn 1937. — [16] Heinigke: Handbuch der homöop. Arzneiwirkungslehre. 3. Aufl., Leipzig 1922. — [17] Stauffer: Klin. homöop. Arzneimittellehre. Regensburg 1926. — [18] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 156/157 (1938).

also doppelt so stark belastet wie die Bryoniazeiten $\left(\frac{114}{146} : \frac{110}{302} = 2{,}8\right)$. Selbstverständlich ist diese stärkere Belastung ein Zufall, aber erst recht kann keine Rede von einer besonderen Wirkung der Bryonia sein. Die Annahme einer besonderen Milchzuckerwirkung während der Scheinmittelperioden kann durchaus keine Erklärung dafür sein, daß eine eventuelle Bryoniawirkung nicht offenbar geworden sei, da die Bryonia-Globuli genau so milchzuckerhaltig waren wie die Pseudoglobuli[19].

Dagegen könnte gegen unsere Ergebnisse der Einwand erhoben werden, daß die von uns verwandten Bryoniadosen zu klein gewesen seien, um das wirkliche Symptomenbild der Bryonia zur Geltung kommen zu lassen. Wir selbst halten es auch nicht für unmöglich, daß bei noch größeren Bryoniamengen, als wir sie verwandt haben, die in der homöopathischen Literatur beschriebenen gastroenteritischen Symptome in Erscheinung treten. Aber es wäre sehr merkwürdig, wenn ein solcher Einwand gerade von homöopathischer Seite erhoben würde, denn die Homöopathie ist nur zum kleineren Teil auf Prüfungen mit großen Dosen und zu ihrem Hauptteil auf den Prüfungen mit kleinen und kleinsten Dosen aufgebaut! Auch haben wohl die Versuchspersonen von v. Zlatarowitch (l. c.), der die ernsthafteste Arzneimittelprüfung mit Bryonia vorgenommen hat (1844), zumeist recht große Dosen von Urtinktur genommen, wenn auch nicht größere als Brückmer in unserem Versuch 11, so doch über längere Zeit[20]. Aber einerseits kommt die außerordentlich große Bedeutung der Suggestion auch in diesen Protokollen zum Vorschein, so wenn Zlatarowitchs Prüfer I auf D_{203} (zweihundertunddrei) ähnliche Magen- und Darmerscheinungen bekommt wie bei Urtinktur, und der Prüfer II eine Fülle von Erscheinungen bei D_1, das bei uns durchaus nichts besonderes zeigte; andererseits haben die großen Dosierungen Zlatarowitchs ganz offenbar mit Homöopathie nichts und mit Toxokologie um so mehr zu tun. Daß es gelingen kann, ein sehr reales Vergiftungsbild der Zaunrübe aufzustellen, soll hier nicht bestritten werden. Die Übelkeit, das Erbrechen, das Kollern im Leib, die Durchfälle usw. halten auch wir (obwohl wir sie in unserem Versuch 11 bei sehr großen Urtinkturdosen nicht gesehen haben) für glaubhafte Folgen einer Bryoniavergiftung; daß es einem Prüfer in solcher Situation auch sonst alles andere als wohl zumute ist, daß er dabei alle möglichen Mißgefühle haben wird, auch das erscheint uns fast selbstverständlich. Aber von dem außerordentlich vielfältigen, differenzierten subjektiven Symp-

---

[19] Streicht man überdies zur Ausschaltung einer möglichen Milchzuckerwirkung auf beiden Seiten die Defäkationssymptome weg und dazu noch lediglich von der Scheinmittelseite die heftigen Leibschmerzen des Prüfers V (eine offenbare Einseitigkeit zugunsten der Bryonia), dann bleibt das Symptomverhältnis noch schlechter: $\frac{72}{146} : \frac{41}{302} = 3{,}8$! — [20] Über Arzneimittelprüfungen mit Bryonia-Urtinktur, die über längere Zeit fortgeführt wurden, werden wir in kurzem nachträglich berichten.

tomenkomplex, den die Homöopathie auch in ihren neuesten Lehr- bzw. Handbüchern der Bryonia als charakteristisch zuschreibt, und der von den homöopathischen Prüfern auch bei nicht toxischen, ja auch bei homöopathisch kleinen Dosen ganz allgemein, d. h. außerhalb jeder individuellen Empfindlichkeit gefunden bzw. bestätigt wurde, haben wir uns nicht überzeugen können, ja unsere eigenen Versuche sprechen durchaus gegen die Existenz eines solchen spezifischen Symptomenbildes.

Zusammenfassung.

1. Zehn Versuchspersonen wurden einer unwissentlichen Arzneimittelprüfung mit Bryonia unterzogen. Es kam dabei bei sechs Versuchspersonen in den Bryoniaperioden zu Magen-Darmerscheinungen, aber auch in den Milchzucker-Scheinmittelperioden kam es bei fünf von den zehn Versuchspersonen zu vermehrter Defäkation, Leibschmerzen, Appetitlosigkeit usw. Eine Milchzuckermitwirkung bei der Entstehung der Magendarmerscheinungen ist deshalb wahrscheinlich. Dazu kommt, daß gerade während der Verabreichung von Urtinktur (Versuchsperson VII, VIII und IX und auch im unwissentlichen Versuch XI) keine oder fast keine Magendarmerscheinungen aufgetreten sind, obwohl bei diesen Personen weitaus die größten Bryoniamengen verabreicht wurden. Daraus ist zu schließen, daß jedenfalls bei den meisten Menschen sehr große Mengen von Bryonia zur Erzeugung von Magendarmstörungen notwendig sind (siehe dazu auch Tabelle 1).

2. Andere Symptome traten während der Scheinmittelperioden in relativ größerer Anzahl auf als während der Bryoniaperioden (siehe Tabelle 1); irgendwelche für Bryonia spezifische Erscheinungen (abgesehen von den unter 1. besprochenen gastroenteritischen) konnten wir erst recht nicht finden. Es gilt dies sowohl von den Verabreichungen kleiner (D_3, D_5 und D_{10}) als auch größerer (Urtinktur und D_1) Bryoniamengen.

Aus den wissenschaftlichen Laboratorien der Ciba.

Chemische Konstitution und pharmakologische Wirksamkeit von in 2-Stellung substituierten Imidazolinen.

Von

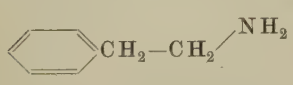
Max Hartmann und **Hans Isler.**

Mit 10 Textabbildungen.

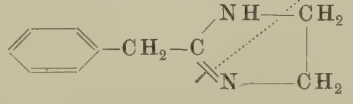
(Eingegangen am 15. Januar 1939.)

In den letzten Jahren hat die Adrenalin-Ephedringruppe eingehende pharmakologische und klinische Bearbeitung erfahren. Wir berichten über eine neue Gruppe von Substanzen, die in einem gewissen Zusammenhang damit steht und aus der eine große Zahl von Verbindungen dargestellt und geprüft wurden. Die von uns untersuchte Reihe betrifft in der Hauptsache aromatische Imidazoline. Aus den folgenden Formelbildern geht die Verwandtschaft mit der Adrenalin-Ephedringruppe hervor. Man sieht andererseits die Beziehungen zum wichtigsten Imidazol, dem Histamin. In den wirksamsten Verbindungen unserer Gruppe steht der Stickstoff wie beim Grundtypus der Adrenalin-Ephedrinreihe, dem Phenyläthylamin, in β-Stellung. Verkürzung oder Verlängerung der Seitenkette ist mit Wirkungsabschwächung verbunden.

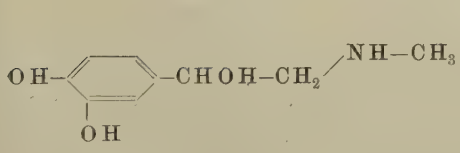
Phenyläthylamin



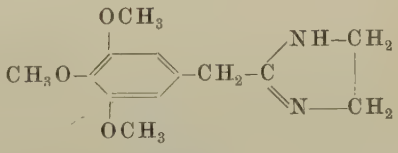
Präparat 3259 (Priscol)



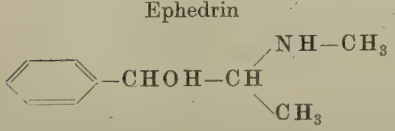
Adrenalin



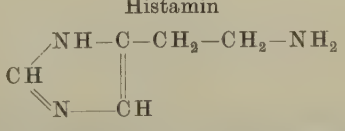
Präparat 2020



Ephedrin



Histamin



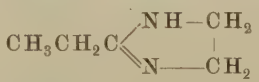
Die gestrichelte Linie zeigt den im Molekül enthaltenen Rest des Phenyläthylamins.

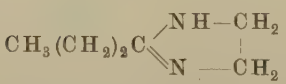
In dieser Arbeit haben wir versucht, die Resultate der pharmakologischen Prüfungen in abgekürzter, bisher nicht üblicher Form darzustellen, aus der Erwägung heraus, daß die Wiedergabe der Kurven und Daten für jede Einzelverbindung die Übersichtlichkeit stören würde. Wir haben dabei zum großen Teil die Versuchsprotokolle des inzwischen leider verstorbenen Herrn F. Uhlmann benutzt. Es ist beabsichtigt, die genaue pharmakologische Analyse einiger besonders wirksamer Verbindungen in speziellen Arbeiten darzustellen, so die Verbindung 2020, die als blutdrucksteigerndes Mittel vor allem beim Operationsschock bereits günstige klinische Beurteilung erfahren hat und die Verbindung 3259, die unter dem Namen Priscol demnächst eingeführt werden soll. Es sei vorweggenommen, daß die letzte Substanz eine besonders auffällige Eigenschaft zeigt; sie verursacht periphere Gefäßerweiterung, die vorzugsweise die kleinen arteriellen Gefäße betrifft. Diese Wirkung ergibt zahlreiche pharmakologische und klinische Fragestellungen.

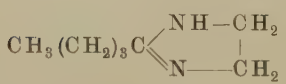
Im folgenden soll ein summarischer Überblick bezüglich der pharmakologischen Wirksamkeit der in 2-Stellung substituierten Imidazoline gegeben werden. Um insbesondere hinsichtlich chemischer Konstitution und pharmakologischer Wirksamkeit ein möglichst vollständiges Bild zu bekommen, wurden Verbindungen in die pharmakologische Untersuchung einbezogen, die teils in unseren Laboratorien hergestellt, teils von Herrn A. Sonn, Königsberg, freundlichst zur Verfügung gestellt wurden. Weitere Präparate wurden nach der Literatur hergestellt (Forssel[1], Ladenburg und Klingenstein[2], Bockmühl[3], Chitwood und Reid[4]).

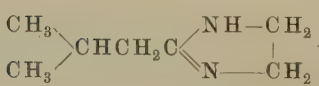
A. Pharmakologische Wirkung der 2-Alkyl-, Cycloalkyl- bzw. Cycloalkylen-Imidazoline.

Zur Untersuchung gelangten folgende Imidazoline:

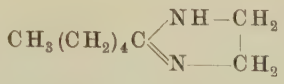
1.  2-Äthyl-imidazolin

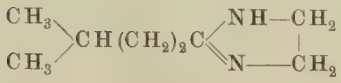
2.  2-n-Propyl-imidazolin

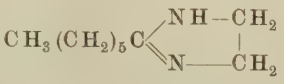
3.  2-n-Butyl-imidazolin

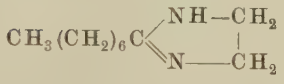
4.  2-i-Butyl-imidazolin

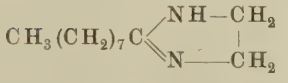
[1] Ber. dtsch. chem. Ges. **25**, 2132—2142 (1892). — [2] Ebenda **27**, 2952—2957 (1894); **28**, 1173—1176 (1895); Höchster Farbenwerke DRP. 78 020. — [3] DRP. 614 596, E. 422 057, A. 1 999 989, Oe. 141 874. — [4] J. Amer. chem. Soc. **57**, 2424—2426.

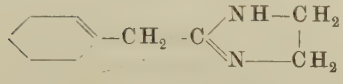
5.  2-n-Pentyl-imidazolin

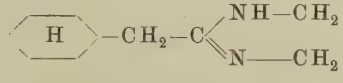
6.  2-i-Pentyl-imidazolin

7.  2-n-Hexyl-imidazolin

8.  2-n-Heptyl-imidazolin

9.  2-n-Octyl-imidazolin

10.  2-Cyclohexenyl-methyl-imidazolin

11.  2-Cyclohexyl-methyl-imidazolin

In Abb. 1 wie auch in den nachfolgenden Abb. 3, 5 und 7 wurde die Toxizität stets als reziproker Wert der Dosis minima letalis (g/kg) bei intravenöser Applikation aufgetragen.

$$T = \text{Toxizität} = \frac{1}{\text{dos. min. let.}}.$$

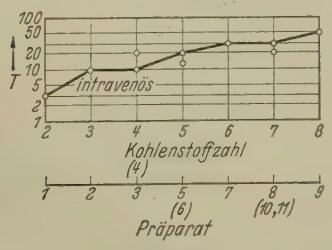


Abb. 1.

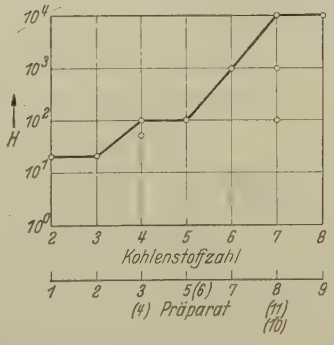


Abb. 2.

Damit wurde bezweckt, daß bei der graphischen Darstellung eine Abnahme der dos. min. let. eine Zunahme der Toxizität bzw. ein Ansteigen der Kurve zur Folge hat. Zudem wurde infolge der oft sehr unterschiedlichen Toxizität, diese lediglich aus darstellerischen Gründen nicht als dekadische Zahl, sondern als Logarithmus naturalis derselben aufgetragen.

Das Kurvenbild zeigt eindeutig, daß die Toxizität dieser Imidazoline mit zunehmender Kohlenstoffzahl der Seitenkette wächst. Bemerkenswert ist die geringere Toxizität der alicyclischen gegenüber den acyclischen Verbindungen mit gleicher Kohlenstoffzahl (siehe Präparat 8 bzw. 10 und 11).

Am isolierten Froschherzen zeigen die Präparate 1—5 eine leichte Vergrößerung der Amplitude, während die übrigen zu einer Abnahme derselben führen. Alle Verbindungen bewirken bei größeren Dosen diastolischen Stillstand. In Abb. 2 sind als Ordinaten die natürlichen Logarithmen der reziproken Werte der Konzentrationen, die zum diastolischen Stillstand führen aufgezeichnet.

Bezeichnet man den reziproken Wert der minimalen, herztötenden Konzentration als Herzgiftigkeit (H), so ist auch hier mit der Zunahme der Kohlenstoffzahl der Seitenkette gleichzeitig eine Vergrößerung der Herzgiftigkeit zu konstatieren.

Alle Verbindungen dieser Gruppe wirken von einer minimalen Dosis von 10^{-3} g/kg an etwas blutdrucksenkend. Hierbei ist bemerkenswert, daß die Präparate 7—10, d. h. die Imidazoline mit einer Seitenkette von 6—8 Kohlenstoffen, am Hundeauge eine leichte Hyperämie erzeugen.

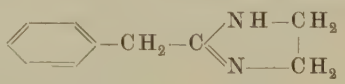
Am isolierten Kaninchendarm führen die Imidazoline mit einer Seitenkette von 2—5 Kohlenstoffen sowie die alicyclischen Imidazoline von einer Minimalkonzentration von 10^{-4} an zu Erregung, während die Imidazoline mit einer Seitenkette von 6—8 Kohlenstoffen von 10^{-6} an lähmend wirken. Als Antagonist gegen Acetylcholin bewirken jedoch auch die wirksamsten Verbindungen 8 und 9 erst bei einer wesentlich höheren Konzentration völlige Spasmolyse.

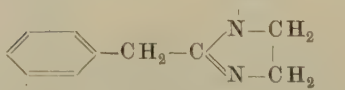
Pharmakologisch weit interessanter als die angeführten aliphatischen sind die aralkylierten Imidazoline.

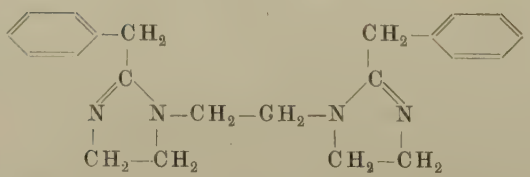
B. Pharmakologische Wirkung der Aralkyl-Imidazoline.

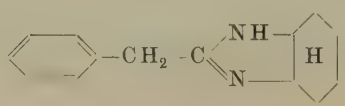
a) Unsubstituierte Aralkylimidazoline.

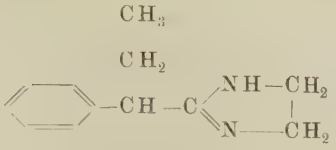
Zur Prüfung gelangten folgende Verbindungen:

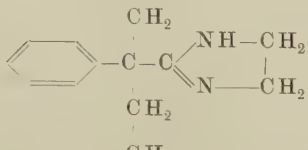
12.  2-Benzyl-imidazolin (Präparat 3259, Priscol)

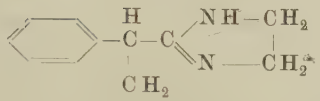
13.  1-Methyl-2-benzyl-imidazolin

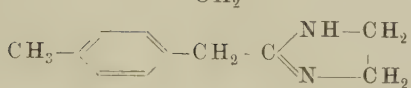
14.  symmetrisches N, N-Dibenzylimidazolin-äthan

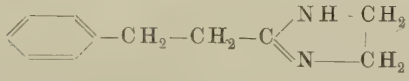
15.  2-Benzyl-hexahydrobenzimidazol

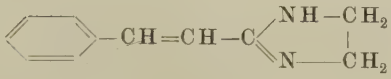
16.  2-(α-Phenyl-n-propyl)-imidazolin

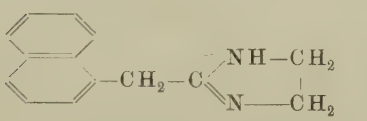
17.  2-[α, α, α-(Phenyl-diäthyl)-methyl]-imidazolin

18.  2-(α-Phenyl-butenyl)-imidazolin

19.  2-(4′-Methyl-benzyl)-imidazolin

20.  2-(β-Phenyläthyl)-imidazolin

21.  2-Styryl-imidazolin

22.  2-[Naphthyl-(1′)-methyl]-imidazolin

In Abb. 3 werden wiederum die Toxizitäten (T) als Ordinate aufgetragen.

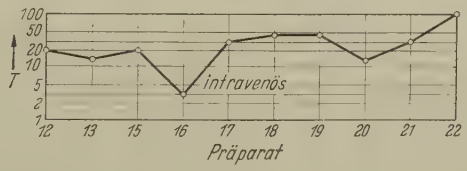


Abb. 3.

Dieses Kurvenbild macht es schwer, irgendeine Gesetzmäßigkeit zwischen chemischer Konstitution und Giftigkeit herauszulesen. Die Methylierung des sek. Stickstoffs im Imidazolinring (13) sowie eine grundlegende Veränderung desselben (15) ändern die Toxizität nur wenig oder gar nicht, während die Einführung eines Äthylrestes in die Methylenbrücke

zwischen Phenyl- und Imidazolinring dagegen eine erhebliche Entgiftung zur Folge hat (16). Wird dagegen eine zweite Äthylgruppe in das Methylen eingeführt (17), so tritt überraschenderweise eine merkliche Steigerung der Toxizität ein. Denselben Effekt erreicht man noch in erhöhtem Maße durch Einführung eines Allylrestes in die Methylengruppe (18) oder eines Methylrestes in den Phenylring (19). Ersatz der Methylenbrücke im ursprünglichen Benzylimidazolin (12) durch eine Äthylen- (20) oder eine Äthylidengruppe (21), ändert die Giftigkeit nur unwesentlich. Weniger erstaunlich ist dagegen die Zunahme der Giftigkeit beim Ersatz des Phenyl- durch den Naphthylrest (22).

Der Einfluß dieser Präparate auf die Aktion des Froschherzens in situ ist von untergeordneter Bedeutung. Alle wirken erst in relativ hohen Dosen verlangsamend, die meisten beginnend bei 1 g kg. Einzig die Verbindung 12 zeigt schon bei der aber immer noch relativ hohen Dosis von 0,01 g/kg Verlangsamung.

Am isolierten Kaninchendarm wirken die Verbindungen 12, 13 und 20 erst bei der Minimalkonzentration von 10^{-4} erregend und nur Verbindung 21 erregt schon bei 10^{-7}. Alle anderen Verbindungen haben hemmenden Einfluß, und zwar am ausgesprochensten Verbindung 22, die schon bei der sehr geringen Konzentration von 10^{-10} beginnende Hemmung hervorruft. Methylierung des sek. Imidazolinstickstoffs der Verbindung 12 sowie Verlängerung der aliphatischen Brücke (20 und 21) vermögen also die Wirksamkeit auf den Darm nicht oder nur graduell zu ändern, während Einführung eines oder zweier aliphatischer Reste in die Methylengruppe (16, 17 und 18) sowie Ersatz der Phenyl durch die Toluyl- oder Naphthylgruppe (19 und 22) zu einer Umkehrung der Darmwirkung führt.

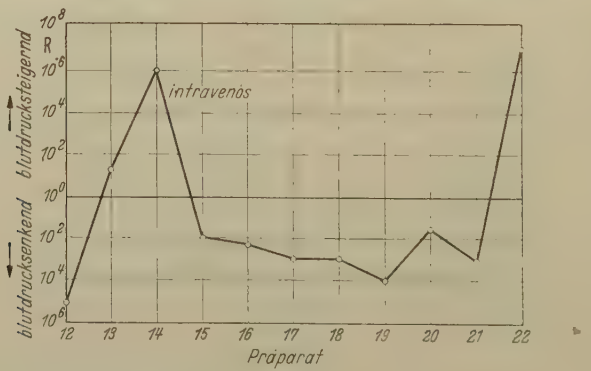


Abb. 4.

Im Gegensatz zu den rein aliphatischen Imidazolinen haben die Imidazoline dieser Serie einen ganz bedeutenden Einfluß auf den Blutkreislauf. In Abb. 4 sowie in Abb. 6 wurde ein Bild der Blutdruckwirksamkeit da-

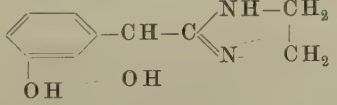
durch erzielt, daß man, ähnlich wie bei der Darstellung der Toxizitäten, den reziproken Wert der dos. min. efficax, also $R = \frac{1}{\text{dos. min. efficax}}$, und zwar wiederum lediglich aus Gründen der besseren Darstellungsmöglichkeit, als Logarithmus naturalis aufzeichnet.

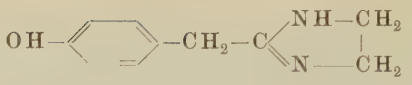
Dieses Kurvenbild zeigt, wie schon kleine Änderungen im Molekül die pharmakologische Wirkung wesentlich verändern können. Während Verbindung 12 als ein recht wirksames, blutdrucksenkendes Mittel angesehen werden muß, bewirkt schon die N-Methylierung dieser Verbindung (13) sowie die Verkupplung zweier Benzylimidazoline durch eine Äthylengruppe (14) eine Umkehrung der Wirkung. Bei letzterer Verbindung ist allerdings zu erwähnen, daß sie nur bei ganz niederen Dosen wie der in Abb. 4 angegebenen von 10^{-5} g/kg Blutdrucksteigerung hervorruft, während indessen Dosen von 10^{-4} g/kg an den Blutdruck senken. Alle übrigen Resteinführungen in das Molekül der Verbindung 12 vermögen den Effekt nur graduell zu verschieben, und zwar im Sinne einer Verringerung der Wirkung. Erst der Ersatz des Phenyl- durch den Naphthylrest (22) verursacht eine Umkehrung des Effekts, und zwar in so hohem Maße, daß letztere Verbindung zu den stark blutdrucksteigernden Mitteln gezählt werden muß.

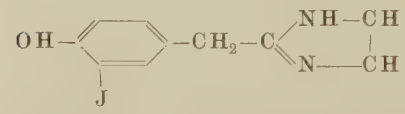
Bekanntlich beeinflussen vorzugsweise drei Faktoren den Blutdruck, das Schlagvolumen, die Elastizität der großen Gefäße und der periphere Widerstand. Wie wir im vorigen schon ausgeführt haben, ist bei diesen Präparaten die Beeinflussung des Schlagvolumens zumindest nicht sichergestellt. Die Änderung der Elastizität der großen Gefäße ist unwahrscheinlich, so bleibt die Beeinflussung des peripheren Widerstands. In der Tat ist es insbesondere Verbindung 12 (Präparat 3259, Priscol) deren Angriffspunkt im peripheren Gefäßsystem zu suchen ist, und zwar sehr wahrscheinlich im Gebiet der kleinen Arterien und insbesondere der Arteriolen, im Gegensatz zum Histamin, das hauptsächlich kapillarerweiternd wirkt. Durch Einträufeln einer wässerigen Lösung von Priscol ins Hundeauge wird in kurzer Zeit eine starke Rötung der Konjunktiva hervorgerufen. Der Effekt ist durch eine größere Blutfülle des Gewebes gekennzeichnet; auch vorher unsichtbare Blutgefäße sind nun deutlich abgezeichnet. Histamin bewirkt dagegen eher eine bläulich-violette Färbung. Daß der Angriffspunkt der Verbindung 12 im peripheren Gefäßsystem zu suchen ist, zeigt auch der Krawkow-Versuch, wo unter bestimmten Bedingungen eine Konzentration von 10^{-8} noch gefäßerweiternd wirkt.

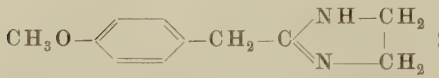
b) Substituierte Aralkylimidazoline.

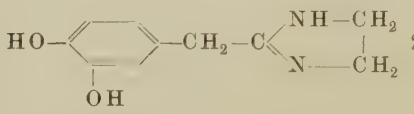
Es wurden untersucht:

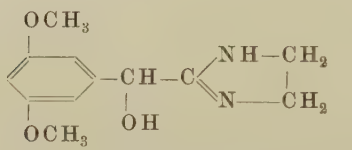
23.  2-(3′-α-Dioxy-benzyl)-imidazolin

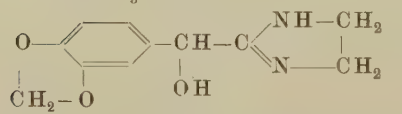
24.  2-(4′-Oxy-benzyl)-imidazolin

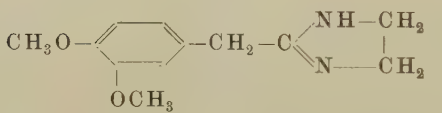
25.  2-(3′-Jod-4′-oxy-benzyl)-imidazolin

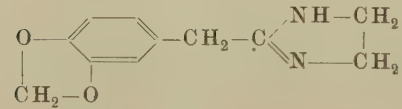
26.  2-(4′-Methoxy-benzyl)-imidazolin

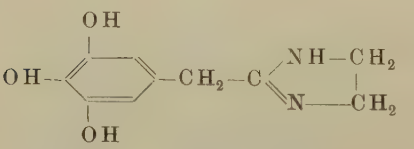
27.  2-(3′, 4′-Dioxy-benzyl)-imidazolin

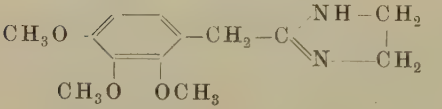
28.  2-(3′, 5′-Dimethoxy-α-oxy-benzyl)-imidazolin

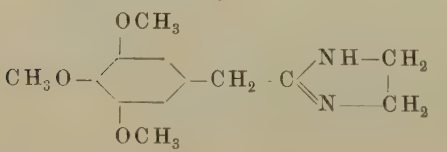
29.  2-(3′, 4′-Methylendioxy-α-oxy-benzyl)-imidazolin

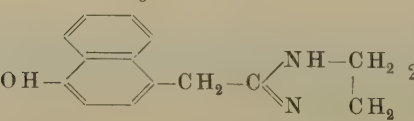
30.  2-(3′, 4′-Dimethoxy-benzyl)-imidazolin

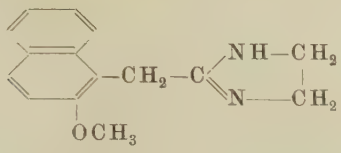
31.  2-(3′, 4′-Methylendioxy-benzyl)-imidazolin

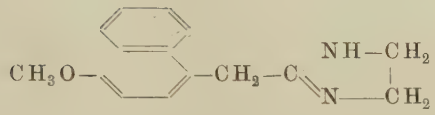
32.  2-(3′, 4′, 5′-Trioxy-benzyl)-imidazolin

33.  2-(2′, 3′, 4′-Trimethoxy-benzyl)-imidazolin

34.  2-(3′, 4′, 5′-Trimethoxy-benzyl)-imidazolin (Präp. 2020, Phedrazin)

35.  2-[4′-Oxy-naphthyl-(1′)-methyl]-imidazolin

36. 
2-[2′-Methoxy-naphthyl-(1′)-methyl]-imidazolin

37. 
2-[4′-Methoxy-naphthyl-(1′)-methyl]-imidazolin

In der Abb. 5 sind wiederum die Toxizitäten T dargestellt. Es ist bemerkenswert, daß bei der Gruppe I durch Einführung einer Oxy- oder Methoxygruppe, ja selbst durch eine zusätzliche Einführung eines Jodatoms in den Benzolring keine Änderung der Toxizität erzielt wird (24, 25, 26). Auch der Ersatz der Methylengruppe der Verbindung 12 durch eine Carbinolgruppe (23) vermag die Giftigkeit nicht zu ändern. Anders verhält es sich in Gruppe II. Ein zweites Hydroxyl im Benzolring führt zu erheblicher Toxizitätssteigerung (27), während indessen Verschluß dieser Hydroxyle durch die Methyl- oder Methylengruppe (30, 31) die Giftigkeit sogar unter diejenige der Verbindungen der Gruppe I hinunterdrückt. Der Ersatz der Methylenbrücke in 30 und 31 durch eine Carbinolbrücke (28 und 29) führt im Gegensatz zu derselben Manipulation in der Gruppe I zu einer Toxizitätssteigerung. Bei Gruppe III sieht man, daß Einführung eines dritten Hydroxyls in die Verbindung 12 zwar auch toxizitätssteigernd wirkt (32), jedoch nicht in dem Maße wie bei Einführung von nur zwei Hydroxylen (27). Verschluß dieser Hydroxyle durch die Methylgruppe wirkt wie in Gruppe II wiederum entgiftend. Ersatz des Benzolringes der Verbindungen 24 und 26 durch den Naphthylring (Gruppe IV) bedingt eine erhebliche Toxizitätssteigerung, eine Erscheinung, die wir ja schon bei den Verbindungen in Abschnitt [B, a)] haben feststellen können.

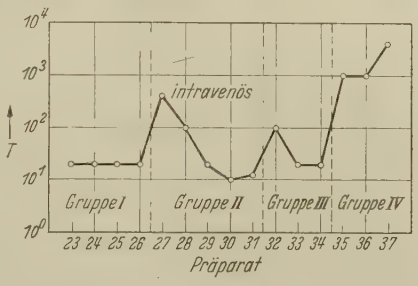


Abb. 5.

Bezüglich Herzwirkung ist von diesen Verbindungen dasselbe zu sagen wie von den Verbindungen des vorigen Abschnittes. Erst relativ hohe Dosen vermögen das Froschherz in situ im Sinne einer Verlangsamung der Aktion zu beeinflussen. Einzig Verbindung 33 bewirkt schon in einer Dosis von 10^{-5} g Verstärkung der Aktion ohne Verlangsamung.

Am isolierten Kaninchendarm wirken fast alle Verbindungen dieser Reihe hemmend, nur die Verbindungen 24, 25, 31 und 32 verursachen bei kleinen Dosen Erregung, um aber bei höherer Dosierung in Hemmung umzuschlagen.

Wie die Verbindungen des Abschnitts B, a) haben auch diese einen ganz erheblichen Einfluß auf den Blutdruck, was in Abb. 6 zum Ausdruck kommt.

In der Gruppe I ist vor allem interessant, daß die Einführung eines Hydroxyls (24) in die Verbindung 12 die Blutdruckwirkung ähnlich wie durch die N-Methylierung (13) umkehrt, wobei jedoch die Wirksamkeit diejenige von Verbindung 13 weit übertrifft (5000fach). Durch Einführung eines Jodatoms (25) kann dieselbe abermals um das zehnfache gesteigert werden, während Ersatz der Methylen- durch die Carbinolbrücke (23) keine Steigerung mehr zur Folge hat. Sonderbarerweise tritt beim Verschluß des Hydroxyls durch Methylierung wiederum eine Umkehrung ein, so daß Verbindung 26 zu den blutdrucksenkenden Mitteln zu zählen ist.

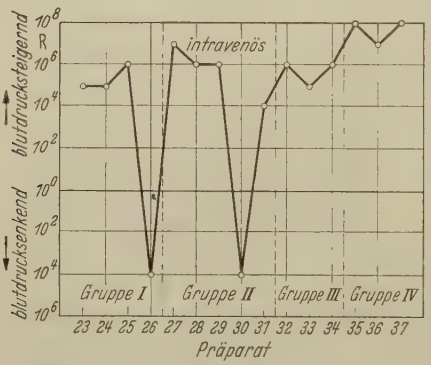


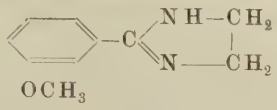
Abb. 6.

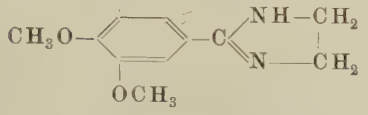
Gruppe II ergibt ein ganz ähnliches Bild. Ein zweites Hydroxyl im Benzolring (27) vermag gegenüber der Verbindung mit nur einem Hydroxyl (24) die blutdrucksteigernde Wirksamkeit um das 100fache zu erhöhen. Wie oben, so kehrt auch hier der Verschluß der Hydroxyle durch Methylierung (30) die Blutdruckwirkung um. Auffallenderweise ergibt sich beim Verschluß der Hydroxyle durch eine Methylengruppe statt durch zwei Methylgruppen (31) in kleinen Dosen noch keine Umkehrung, sondern nur eine Verringerung der Wirksamkeit. Bei größeren Dosen tritt vorerst auch noch Blutdrucksteigerung ein, jedoch mit nachfolgender starker Senkung. Wird in den Verbindungen 30 und 31 die Methylenbrücke durch eine Carbinolbrücke ersetzt, so tritt gegenüber Verbindung 27 zwar keine Umkehrung, aber immerhin eine Abschwächung ein (28 und 29).

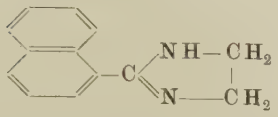
Gruppe III umfaßt Verbindungen mit drei Hydroxylen bzw. drei Methoxylen, die alle eine ganz beträchtliche Blutdrucksteigerung hervorrufen. Hier findet durch Verschluß der Hydroxyle keine Umkehrung mehr statt.

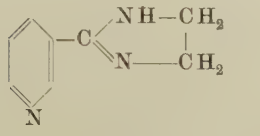
Ersatz des Benzolringes der Verbindungen von Gruppe I durch den Naphthalinring (GruppeIV) bewirken gegenüber den blutdrucksteigernden Mitteln jener Gruppe eine außerordentliche Verstärkung. Verbindung 37 verdient hierbei ganz besonders hervorgehoben zu werden, denn diese bewirkt am isolierten Gefäßapparat bei der erstaunlich geringen Konzentration von 10^{-11} noch Gefäßverengung, was natürlich mit der außerordentlichen Blutdrucksteigerung im Zusammenhang steht. Überdies ist bei einer zwar beschleunigten Atmung eine Vertiefung derselben zu konstatieren.

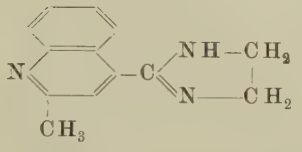
C. Pharmakologische Wirkung von substituierten und unsubstituierten Aryl- und heterocyclisch substituierten Imidazolinen.

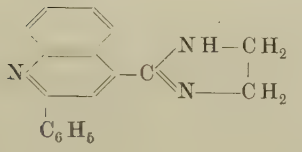
38.  2-Phenyl-imidazolin

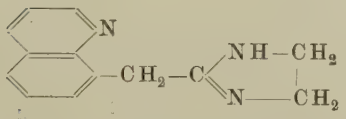
39.  2-(3′, 4′, 5′-Trimethoxy-phenyl)-imidazolin

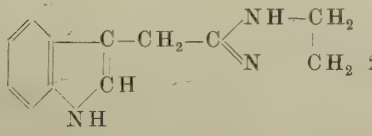
40.  2-[Naphthyl-(1′)]-imidazolin

41.  2-[Pyridin-(3′)]-imidazolin

42.  2-[2′-Methyl-chinolin-(4′)]-imidazolin

43.  2-[2′-Phenyl-chinolin-(4′)]-imidazolin

44.  2-[Chinolin-(8′)-methyl]-imidazolin

45.  2-[Indolyl-(3′)-methyl]-imidazolin

Diese Verbindungen sind in jeder Beziehung weniger interessant als die Aralkylimidazoline. Es geht dies schon aus ihrer geringen Giftigkeit (siehe Abb. 7) hervor, wo einzig Verbindung 45 auffällt.

Am Froschherz in situ zeigen diese Präparate erst bei ganz großen Dosen Verlangsamung der Aktion. Am iso-

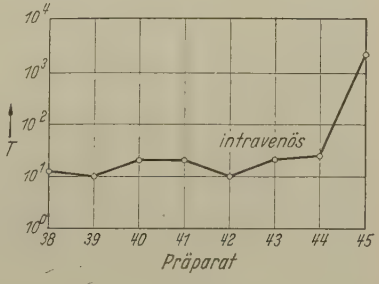


Abb. 7.

lierten Kaninchendarm ist bei allen mit Ausnahme von 41 Hemmung zu konstatiern, jedoch nicht so stark, daß sie als Spasmolytika in Frage kommen könnten.

Auf den Blutdruck haben nur die Verbindungen 44 und 45 einen bedeutenden Einfluß. Erstere verursacht schon in Dosen von 10^{-6} g kg Senkung, während 45 in denselben Dosen steigernd wirkt und somit, aber bei wesentlich größerer Giftigkeit, an die Verbindung 34 herankommt.

D. Vergleich der wirksamsten blutdruckbeeinflussenden Imidazoline.

Die hervorstechendste pharmakologische Eigenschaft dieser Imidazoline ist die Blutdruckwirkung. Während indessen in den vorigen Abschnitten stets nur die minimal blutdruckbeeinflussende Dosis als Kriterium in Anwendung kam, sollen hier, wo es gilt ein möglichst vollständiges Bild über die Qualitäten der einzelnen Verbindungen zu bekommen, noch weitere Faktoren berücksichtigt werden. Wesentlich für die Beurteilung der Qualität eines Präparates ist bekanntlich die therapeutische Breite

$$B = \frac{\text{dos. min. let.}}{\text{dos. min. efficax}}.$$

Im Falle der Auslese der günstigsten Verbindung ist aber nicht nur dieser Quotient von Bedeutung, sondern auch die Wirkungsausbeute (W), worunter man nach K. Miescher[5] allgemein die durch eine bestimmte Dosis erzielte Änderung der Wirkung bezüglich Intensität und Dauer versteht. Werden nun diese beiden Komponenten zueinander in Beziehung gebracht, so gelangt man zu einer neuen Größe, die als Wirkungsqualität bezeichnet werden soll und sich durch folgende, allgemein gültige Formel

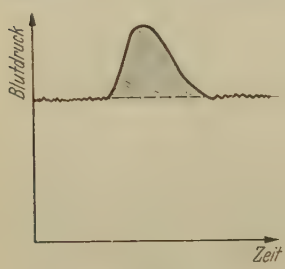


Abb. 8.

$$Q_d = B \times W_d$$

ausdrücken läßt, wobei der Index d andeuten soll, daß auch diese Größe ähnlich wie die Wirkungsausbeute von der Dosierung abhängig ist.

In Abb. 8 ist die Wirkung eines blutdrucksteigernden Präparates schematisch abgebildet. Die schattierte Fläche stellt die Wirkungsausbeute dar. Sie wird praktisch auf planimetrischem Wege ermittelt und in Millimeter-Minuten ausgedrückt.

Von den in den vorigen Abschnitten angeführten blutdrucksenkenden Imidazolinen fällt die Wahl, nicht zuletzt wegen seiner spezifischen, peripheren Gefäßerweiterung, nur unschwer auf Verbindung 12 (Benzylimidazolin, Priscol). Anders ist es bei den blutdrucksteigernden Verbindungen dieser Körperklasse, wo eine größere Zahl eine bedeutende Wirkung aufweist.

[5] Schweiz. med. Wschr. **68**, 1345—1349 (1938).

In Abb. 9 werden die Wirkungsqualitäten (Q) der stärksten blutdrucksteigernden Imidazoline als Ordinaten aufgetragen, und zwar wurde intravenös $^1/_{1000}$, subcutan $^1/_{10}$ und per os $^1/_5$ der dos. min. let. appliziert.

Beurteilt man nur nach der Wirkungsqualität bei intravenöser Applikation, so fallen insbesondere die Verbindungen 22, 25, 34 und 35 auf, berücksichtigt man auch zusätzlich die Wirkung bei subcutaner Applikation, so verbleiben noch die Verbindungen 25, 34 und 35. Unter Berücksichtigung aller drei Applikationsarten muß die Wahl eindeutig auf die Verbindung 34 fallen. Es ist dies auch die Verbindung, die schon seit längerer Zeit unter der Bezeichnung „Präp. 2020" einer exakten klinischen Prüfung unterzogen

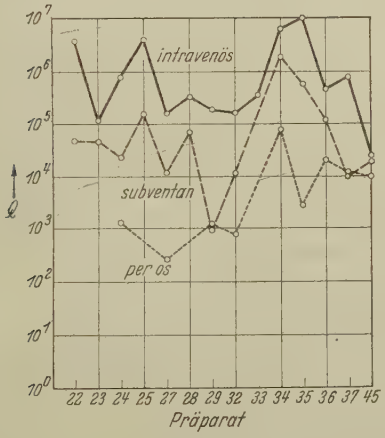


Abb. 9.

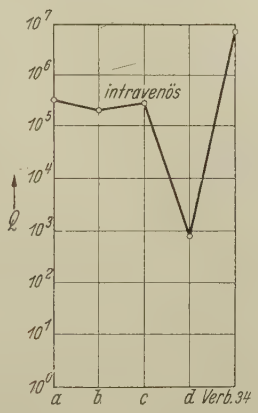


Abb. 10.

wurde. Wir verweisen insbesondere auf die Arbeit von F. A. Avery Jones und Clifford Wilson[6].

Es dürfte von Interesse sein, das wirksamste blutdrucksteigernde Imidazolin mit einigen bekannten Präparaten dieser Art zu vergleichen. In Abb. 10 sind die Wirkungsqualitäten von p-Methylaminoäthanolphenol (a), Ephedrin (b), o-Dioxyphenylpropanolamin (c), Adrenalin (d) einerseits und Verbindung 34 andererseits bei intravenöser Applikation von $^1/_{1000}$ der dos. min. let. als Ordinaten aufgetragen.

Aus diesem Kurvenbild ist ohne weiteres ersichtlich, daß Verbindung 34 den angeführten Handelspräparaten bezüglich der blutdrucksteigernden Wirkung überlegen ist. Die relativ ungünstige Wirkungsqualität des Adrenalins ist neben seiner geringen therapeutischen Breite auch noch seiner kurzen Wirkungsdauer zuzuschreiben. Damit soll durchaus nicht gesagt werden, daß die Natur im Adrenalin ein unvollkommenes Hormon produziert; es soll lediglich angetönt werden, daß es zur künstlichen Blutdruck-

[6] The Lancet **1938**, S. 195.

regulierung wegen raschem oxydativem Abbau und somit schnellem Abklingen der Wirkung nicht so geeignet erscheint wie beispielsweise Verbindung 34. Die biologische Druckregulierung kann sich ja durch kontinuierliche Produktion und Ausschüttung helfen.

Zusammenfassung.

Es wurde gezeigt, daß in der Körperklasse der in 2-Stellung substituierten Imidazoline ein gewisser gesetzmäßiger Zusammenhang zwischen chemischer Konstitution und pharmakologischer Wirkung besteht. Die hervorstechendste Eigenschaft dieser Imidazoline ist ihr Einfluß auf den Blutkreislauf; während die aliphatischen sowie die rein aromatischen und direkt gebundenen heterocyclischen Imidazoline einen unwesentlichen, senkenden Einfluß auf den Blutdruck aufweisen, ergeben die substituierten und unsubstituierten Aralkyl- sowie die heterocyclisch substituierten Alkylimidazoline ein recht interessantes Bild.

Die phenylsubstituierten Alkylimidazoline senken fast ausnahmslos den Blutdruck, das einfache Benzylimidazolin (Priscol) am stärksten. Diese Verbindung zeichnet sich gleichzeitig durch eine spezifische Wirkung auf die peripheren Gefäße (kleinen Arterien und Arteriolen) im Sinne einer starken Erweiterung aus. Dieser eigenartige Effekt, der außer bei der genannten Verbindung nur noch bei den aliphatischen Imidazolinen mit einer Seitenkette von 6—8 Kohlenstoffen, hier aber nur andeutungsweise, auftritt, dürfte dem Benzylimidazolin ein beträchtliches Indikationsgebiet eröffnen. Es ist dabei insbesondere an periphere Gefäßpasmen und Zirkulationsstörungen zu denken.

Wird der Benzolring im Benzylimidazolin durch den Chinolinrest ersetzt, so tritt höchstens eine graduelle Änderung ein, wobei aber die ausgesprochene Blutgefäßerweiterung der Peripherie verloren geht. Ersatz des Benzolringes durch den Naphthyl- oder Indolylring führt zur Umkehrung der Wirkung, d. h. zu Blutdrucksteigerung, die durch Einführung einer Oxy- bzw. Methoxygruppe in den Naphthylring noch verstärkt werden kann. Derselbe Effekt kann auch durch Substitution eines, zweier oder dreier Wasserstoffatome des Benzolringes im Benzylimidazolin durch Hydroxyle bzw. durch drei Methoxyle erzielt werden. Hierbei hat sich das 2-(3′, 4′, 5′-Trimethoxybenzyl)-imidazolin (Präp. 2020, Phedrazin) als das wirksamste aller blutdrucksteigernden Imidazoline erwiesen. Es ist gegenüber den in der Therapie hauptsächlich verwendeten pressorischen Mitteln, insbesondere dem Adrenalin, durch die größere Wirkungsdauer ausgezeichnet. Diese Eigenschaft kommt, wenn auch in geringerem Maße, den übrigen blutdrucksteigernden Alkoxyaralkylimidazolinen ebenfalls zu, während die durch freie Hydroxyle substituierten Verbindungen dieser Gruppe wiederum größere Ähnlichkeit mit dem Adrenalin haben.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Würzburg.
(Direktor: Prof. Flury.)

Untersuchungen zur Kumulation der Digitaliskörper.

Von
Werner Lindner.

(Eingegangen am 15. Februar 1939.)

Die Digitalisforschung hat sich lange Zeit vor allem mit den funktionellen, quantitativen, qualitativen und chemischen Problemen der herzwirksamen Stoffe beschäftigt. Erst durch die Untersuchungen von Fromherz und Bauer[1] und Büchner[2, 3] ist das Interesse auf histologische Veränderungen im Herzmuskel nach der Verabreichung von Digitalispräparaten hingelenkt worden. Diese Untersucher fanden schwere Gewebszerstörungen im Myokard der mit hohen Digitoxindosen vergifteten Versuchstiere. Besondere Bedeutung haben diese Befunde für die Frage der Kumulation der Digitaliskörper gewonnen.

Büchner[2, 3] hat versucht, die Entstehung dieser Nekrosen zu erklären. Neben der Möglichkeit, daß sie die Folge einer unmittelbaren Giftwirkung der Digitalisglykoside auf den Herzmuskel sind, sieht er vor allem die Ursache in einer ungenügenden, den Ansprüchen nicht entsprechenden Durchblutung des Herzmuskels. Er weist darauf hin, daß sie ähnlich sind wie beim Menschen[4], der infolge eines Herzanfalls gestorben ist, oder auch wie beim anämisierten Kaninchen[5] nach starker körperlicher Anstrengung. Für alle diese Nekrosen die gleiche Ursache anzunehmen, lag um so näher, als sie oft an entsprechenden Stellen des Herzmuskels angetroffen wurden. Eine Anzahl der Katzen, denen Digitoxin injiziert worden war, ging nach Büchner unter dem Bilde eines stenokardischen Anfalls zugrunde. Außerdem soll nach der Verabreichung hoher Digitalisdosen ein Stadium starker Beschleunigung der Herztätigkeit durchlaufen werden und der Herzmuskel sich dabei erschöpfen.

Diese Erklärung kann aber nicht vollständig befriedigen. Wir sahen von einer großen Anzahl von Katzen, denen hohe Dosen von Digitoxin, Oleandrin und anderen Herzgiften eingespritzt worden waren, nur selten ein Tier auf diese Art zugrunde gehen. Kaum eine Katze, die etwa einen Tag lang oder mehr nach der Glykosidgabe noch lebte, erinnerte in ihrem äußeren Bilde an einen stenokardischen Anfall. Im Gegenteil, die Tiere wurden von Tag zu Tag ruhiger und lagen zum Teil lange Zeit fast bewegungslos auf der Seite, ehe der Herzstillstand eintrat. Weese und

[1] Fromherz u. Bauer: Klin. Wschr. **12**, 973 (1933). — [2] Büchner: Ebenda, S. 1237. — [3] Büchner: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **176**, 59 (1934). — [4] Büchner: Beitr. path. Anat. **89**, 644 (1932). — [5] Büchner: Ebenda **92**, 311 (1933).

Dieckhoff[6] fanden bei ihren Versuchen nur bei 3 von 50 Katzen vermehrte Herzaktion, ähnlich wie wir, worauf noch näher eingegangen wird. Ferner unterscheiden sich die Zirkulationsverhältnisse der Herzen der gesunden Katzen wahrscheinlich weitgehend von denen der Menschen, die Büchner[4] untersuchte. Die Kranzgefäße dieser Herzen waren bis auf einen Fall arteriosklerotisch verändert. Auch lassen sich wohl die Verhältnisse bei den anämisierten Kaninchen[5] nicht ohne weiteres auf die Katzen, denen Digitoxin injiziert worden war, übertragen, da diese im Gegensatz zu den Kaninchen über normale Blutmengen verfügten.

Die Kumulation ist ursprünglich eine am Krankenbett beobachtete Erscheinung gewesen, die bei der Digitalisbehandlung und nicht bei vorsätzlichen Vergiftungen gesehen wurde. Es ist nicht anzunehmen, daß, wenn bei der klinischen Digitalisbehandlung die ersten Kumulationserscheinungen auftreten, bereits Nekrosen im Herzmuskel vorhanden sind. Es muß also auch eine Kumulation ohne Nekrosen geben. Diese können höchstens ein Endzustand kumulativer Digitaliswirkung sein.

Daß selbst kleine Dosen kumulieren können, wenn sie entsprechend verabreicht werden, und daß bei wiederholten, zunehmenden Dosen die Kumulationsneigung ständig zunehmen kann, geht aus den Untersuchungen von Lendle[7], Lü[8], Bauer[9] und unseren eigenen Beobachtungen hervor. Es ist zu erwägen, ob man eine „therapeutische" von einer „toxischen" Kumulation bzw. einer rein toxischen Schädigung unterscheiden soll. Befriedigender wäre es, wenn man für den Begriff „Kumulation" eine einheitliche biologische Grundlage aufstellen könnte. Die Kumulation wäre dann ein eindeutiger Begriff mit quantitativen und nicht qualitativen Unterschieden, wie es schon Fraenkel[10] auffaßte. Er ist der Ansicht, daß „die therapeutische und toxische Kumulation wesensgleiche Vorgänge sind, die sich das eine Mal in den Grenzen des gewünschten Erfolges halten, das andere Mal bei zu großen und zu häufig wiederholten Gaben diese Grenze überschreiten". Heubner und v. Nyary[11] halten es für möglich, wenn nicht für wahrscheinlich, daß „Kumulation" und „Schädigung" Ausdruck für ein und dieselbe Grundeigenschaft der einwirkenden Substanzen sind und sich nur dem Grade nach unterscheiden.

Im Gegensatz zu Hoekstra[12], der im Herzen ein Substrat für die tödliche Herzwirkung und ein anderes für die Kumulation vermutet, und zu der Annahme Hatchers, daß vor allem eine Kumulation der Substanz besteht, neigt heute eine große Anzahl von Autoren (Fromherz und Bauer[1], Bauer[9, 13, 14], Lendle[7] u. a.) zu der Ansicht, daß die Digitalis-

---

[6] Weese u. Dieckhoff: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **176**, 274 (1934). — [7] Lendle: Ebenda **180**, 518 (1936). — [8] Lü: Ebenda **180**, 539 (1936). — [9] Bauer: Klin. Wschr. **17**, 70 (1938). — [10] Fraenkel: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **57**, 123 (1907). — [11] Heubner u. v. Nyary: Ebenda **177**, 60 (1935). — [12] Hoekstra: Ebenda **163**, 35 (1932). — [13] Bauer: Ebenda **172**, 699 (1933) — [14] Bauer: **176**, 65 (1934).

glykoside in mäßigen Dosen funktionelle oder auch reversible histologische Veränderungen bzw. Schädigungen im Herzen setzen, die bei höheren Gaben irreversibel werden.

Wir stellten uns nun die Aufgabe, nach strukturellen Veränderungen im Herzmuskel zu suchen, die einmal der Ausdruck einer reversiblen Schädigung sind und so den klinischen Erscheinungen der Kumulation entsprechen könnten, auf der anderen Seite aber sich bis zum Gewebsuntergang weiterentwickeln können, wie man es im Tierversuch nach der Verabreichung hoher Digitoxindosen beobachten kann. Diese Voraussetzungen würden degenerative Prozesse erfüllen. Sie sind innerhalb gewisser Grenzen rückbildungsfähig, können aber bei fortgesetzter Einwirkung des schädlichen Agens sehr wohl zum Gewebsuntergang führen.

Degenerative Prozesse im Herzmuskel nach Digitaliszufuhr wurden erstmalig von Lewitzki[15] beschrieben. Er stellte Versuche mit Katzen, Hunden und Kaninchen an, denen er „chronisch und stark" Infus. dig., Digitoxin Merck und Tinkt. dig. zuführte. Er sah Degenerationen der Herzmuskelzellen vorwiegend eiweißartiger Natur, selten fettiger Art, die manchmal zum Absterben und Verfall führten. Die Veränderungen waren besonders stark bei Katzen ausgeprägt, weniger bei Hunden und Kaninchen. Die Degenerationen wurden vor der Entstehung der entzündlichen Reaktion beobachtet und deshalb als primäres Moment für die Entwicklung der Myokarditis angesehen. Ferner bestanden degenerative Prozesse der Herzganglien, die sich vorwiegend auf eiweißartige Zellbestandteile erstreckten.

Auch Weese und Dieckhoff[6] berichten von vereinzelten fettigen Degenerationsherden neben ausgesprochenen Nekrosen im Myokard der Katzen. Bei Hunden und Kaninchen fanden sie keine wesentlichen Veränderungen. Es konnte lediglich eine auch spontan auftretende feinstäubige Verfettung der Herzmuskelfasern festgestellt werden.

Unsere Aufgabe bestand vor allem darin, zu untersuchen, ob durch Digitalisglykoside in kumulierender Dosierung strukturelle Veränderungen, etwa im Sinne von Degenerationen, zu finden sind, und ob sich auch Übergangsformen von Degeneration zu Nekrose nachweisen lassen.

Eigene Versuche.

Die für die Versuche verwendeten Katzen wurden aus einer Zahl von nahezu 100 Tieren sorgfältigst ausgewählt, nachdem sie längere Zeit bei bester Pflege und Fütterung auf ihren Gesundheitszustand hin genau beobachtet worden waren. Diese sorgfältige Auswahl war nötig, weil sich die Versuche zum Teil über Monate erstreckten. Ein Teil der Tiere verendete im Laufe der Versuche. Bei den übrigen wurde der sogenannte

[15] Lewitzki: Diss. Petersburg 1904, ref. Ztbl. Path. **16**, 532 (1904). (Die Arbeit war uns im Original nicht zugänglich.)

Kumulationsrest durch intravenöse Infusionen von g-Strophanthin Merck (1 : 100000) nach de Lind van Wijngaarden bestimmt. Die verabreichten Einzeldosen, berechnet in Prozent der Dosis letalis minima [Hatcher-Dosis (HD)] wurden bezogen auf das Anfangsgewicht, die Auffülldosen auf das Endgewicht, das sich zum Teil beträchtlich von ersterem unterschied. Die HD von 0,12 mg/kg intravenös für g-Strophanthin Merck bestimmten wir an neun Katzen, die ausreichend übereinstimmende Werte lieferten. Jedes Tier wurde seziert.

1. Reihe.

5 Katzen (Nr. 3, 4, 5, 6, 7) wurde chemisch reines kristallines Digitoxin subcutan injiziert, das mir ebenso wie das später verwandte Oleandrin von Herrn Dozent Dr. Neumann, Würzburg, freundlichst zur Verfügung gestellt wurde. Insgesamt verabreichten wir jeder dieser 5 Katzen 55% der HD (Digitoxin-HD: 0,41 mg pro kg; Fromherz und Welsch[16]) als Einzeldosen in folgender Weise:

1. Tag: 20% der HD
4. „ 10% „ „
6. „ 5% „ „
8. „ 10% „ „
11. „ 20% „ „

Von diesen Tieren verendete die Katze Nr. 3 (Anfangsgewicht 2,8 kg; Endgewicht 1,65 kg) am 13. Tage. Nr. 4 und 5 wurden am 15., Nr. 6 und 7 am 16. Tage durch Infusion von g-Strophanthin 1 : 100000 getötet. Die Kumulationsreste betrugen für

Nr. 4 (2,0—1,8 kg) 50% der HD
„ 5 (4,0—3,5 „) 25% „ „
„ 6 (3,2—2,4 „) 49% „ „
„ 7 (2,7—2,1 „) 50% „ „

Entsprechend der starken Digitoxineinwirkung boten die Katzen das typische Bild (Erbrechen, Freßunlust, stilles Verhalten, Unsauberkeit usw.).

2. Reihe.

4 Katzen (Nr. 1, 2, 8, 9) wurde Oleandrin in gleichen Abständen und in prozentual gleichen Mengen wie in der ersten Reihe injiziert (Oleandrin-HD: 0,24 mg pro kg; Flury und Neumann[17]). Die Katzen Nr. 1 (2,5—1,5 kg) und 2 (2,3—1,5 kg) gingen am 12. Tage zugrunde. Die beiden anderen wurden am 18. Tage mit g-Strophanthin getötet.

Kumulationsreste für Nr. 8 (2,7—2,5 kg) 85% der HD
„ „ „ 9 (3,0—2,6 „) 91% „ „

[16] Fromherz u. Welsch: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **161**, 266 (1931). — [17] Flury u. Neumann: Klin. Wschr. **14**, 562 (1935).

3. Reihe.

3 weiteren Katzen (Nr. 54, 55, 56) wurden am 1. Tage 30 % der HD Digitoxin und an den 48 folgenden Tagen je 2 % der HD Digitoxin subcutan eingespritzt. Kumulationsreste ließen sich bei der am 50. Tage erfolgten Infusion nicht feststellen. Die Tiere nahmen nur unwesentlich an Gewicht ab (Nr. 54: 2,4—2,3 kg; Nr. 55: 2,8—2,8 kg; Nr. 56: 2,7—2,3 kg). Die Katze Nr. 56 erbrach am 8. Tage. Sonst waren keine auffälligen Veränderungen zu bemerken. Die Pulsfrequenz ging bei keiner Katze über 140/Min. hinaus. Arhythmien bestanden nicht.

4. Reihe.

3 Katzen (Nr. 51, 52, 53) wurden 44 Tage lang täglich 3,3 % der HD Digitoxin subcutan injiziert. Als Kumulationsreste wurden am 45. Tage festgestellt bei

Nr. 51 (2,2—1,75 kg) 34 % der HD
„ 52 (2,8—2,9 „) 32 % „ „
„ 53 (3,4—3,4 „) 25 % „ „

Diese 3 Katzen zeigten das Bild nicht schwer geschädigter Tiere. Sie wurden unsauberer als unbehandelte Tiere, saßen oder lagen still im Käfig ohne Interesse für die Umgebung zu zeigen, ließen sich ohne Abwehr die tägliche Injektion gefallen, fraßen aber ausreichend, wie aus den Gewichtsangaben zu ersehen ist. Nach einer anfänglichen kurzfristigen Pulsfrequenzsteigerung bis zu 180/Min. sank die Schlagfolge nach mehreren Tagen auf 110—130/Min. ab.

5. Reihe.

3 Katzen (Nr. 57, 58, 59) wurden täglich 5 % der HD Digitoxin injiziert. Die Katze Nr. 58 (Anfangsgewicht 3,3 kg) verendete am 11. Tage, Nr. 57 (Anfangsgewicht 3,7 kg) am 16. Tage. Nr. 59 (5,2—2,9 kg) wurde am 18. Tage mit g-Strophanthin aufgefüllt und wies einen Kumulationsrest von 60 % auf. Dieses Tier erbrach am 3. Tage mehrere etwa 4—6 cm lange Würmer. Sonst verhielten sich alle Katzen entsprechend der zunehmenden Digitoxinwirkung. Niemals konnten wir stenokardische Beschwerden beobachten. Die Pulsfrequenz erreichte bei Katze Nr. 58 am 9. Tage 190/Min., bei den beiden anderen ging sie nicht über 156/Min. hinaus.

Pathologisch-anatomische und histologische Untersuchungsergebnisse.

Alle Katzen wurden seziert und ihre Organe sorgfältig makroskopisch betrachtet. Dabei sahen wir niemals grobe pathologische Veränderungen. Bei Katze Nr. 59 fanden wir kleine subpleurale Petechien und bei Nr. 57 einen etwa linsengroßen Parasiten der Lunge. Subendocardiale Blutungen, wie sie Lendle[7] bei seinen Tieren, die besonders hohe Kumulationsreste aufwiesen, gesehen hat, konnten wir nicht beobachten.

Von den Katzenherzen Nr. 1, 8, 9 (Oleandrin insgesamt 55% der HD), Nr. 3, 5, 7 (Digitoxin insgesamt 55% der HD), Nr. 51, 53 (3,3% der HD Digitoxin 44 Tage lang) und Nr. 57, 58, 59 (Digitoxin täglich 5% der HD) wurden Gefrierschnitte angefertigt, die größtenteils der Wand des li. Ventrikels entstammten, zum Teil wurde auch die der rechten Kammer oder das Septum mit getroffen. Färbungen: Hämatoxylin-Eosin. Sudan III und zum Teil van Gieson.

Die Ergebnisse der histologischen Untersuchungen lassen sich kurz zusammenfassen. Die einzelnen Bilder* unterscheiden sich nicht prinzipiell, sondern nur graduell voneinander. Bei allen Herzen, außer Nr. 51 und 53, fanden sich deutliche Gewebsveränderungen im Sinne einer Degeneration. Die Lokalisation der verschieden großen, degenerierten Herzmuskelbezirke entsprach zum Teil der der von Büchner gefundenen Nekrosen. Sie fanden sich also in der Nähe der Innenwand und in den Papillarmuskeln. In einer Anzahl von Schnitten waren sie außerdem in der subepikardialen Schicht festzustellen und in zwei Fällen (Nr. 9 und 57) war der größte Teil des im Schnitt getroffenen Myokards befallen.

Im einzelnen war eine ungleichmäßige, fein- bis grobtropfige Verfettung der Muskelzellen zu erkennen. Die Querstreifung war zumeist erhalten. Im Sarkoplasma fanden sich Vakuolen und ungewöhnlich große perinucleäre helle Räume, die nicht als normal angesehen werden können. Die Kerne waren in den weniger stark betroffenen Partien größtenteils von normalem Aussehen, in anderen Bezirken der gleichen Schnitte aber schon schlecht gefärbt oder deformiert und pyknotisch, teilweise überhaupt nicht mehr zu erkennen.

Die Verfettungen sind mindestens zum großen Teil nicht als bloße Infiltrationen, welche noch ins Physiologische fallen, anzusehen, wie etwa die Verfettung der Nierenepithelien beim Hund, sondern als pathologisch und degenerativ. Dies gilt mit Sicherheit von denjenigen, welche mit Veränderungen der Kerne und der kontraktilen Substanz verbunden sind. Damit ist der Beweis dafür gegeben, daß ein Übergang einfacher Verfettung in Gewebsuntergang vorliegt.

Die Herzen Nr. 51 und 53 zeigten keine degenerativen Veränderungen, sondern herdförmige, bereits vollendete Nekrosen mit Blutungen und geringgradiger zelliger Infiltration. Die Kerne waren vollkommen zerstört und die Myofibrillen homogenisiert, während am erhaltenen Gewebe keine Besonderheiten vorhanden waren. Gefäßveränderungen konnten wir bei keinem unserer Schnitte beobachten. Die Digitaliskörper sind also fähig, außer den bekannten irreversiblen Nekrosen auch reparable Zellveränderungen im Sinne von Degenerationen verschiedensten Grades zu setzen.

Der frühere Direktor des Pathologischen Instituts der Universität Würzburg, Herr Geheimrat M. B. Schmidt, hatte die große Freundlich-

* Einige Mikro-Farbaufnahmen der Präparate sind bei einem Vortrag des Verfassers [vgl. Naunyn-Schmiedebergs Arch. **190**, 210 (1938)] projiziert worden.

keit, unsere Schnitte durchzusehen und zu beurteilen. Auch an dieser Stelle möchte ich ihm meinen besten Dank für seine freundliche Unterstützung aussprechen.

Besprechung.

Wir möchten uns auf die Besprechung der morphologischen Begleiterscheinungen am Herzen und ihre Bedeutung beschränken. Die Möglichkeit einer Kumulation der Substanz, d. h. einer chemischen Speicherung der Glykoside im Herzmuskel, soll dagegen hier nur erwähnt werden. Sie wird heute von zahlreichen Autoren abgelehnt (Lendle[7], Fromherz und Bauer[1], Bauer[9], Lü[8] u. a.). Weese und Dieckhoff[6] und Weese[18] dagegen nehmen an, daß der Kumulation kleiner Dosen eine rein chemische Speicherung zugrunde liegt, und daß sich nach größeren Dosen aus der Speicherung eine irreversible sekundäre Schädigung, eine Myokarditis, entwickelt. — Die Frage einer Kumulation der Substanz kann so lange nicht geklärt werden, wie ein exakter chemischer Nachweis der Glykoside oder ihrer wirksamen Abbaustufen im Herzen nicht möglich ist. Cloettas und Fischers[19] Untersuchungen dürften dazu nicht ausreichend sein (vgl. Neumann[20]).

Faßt man die bisher vorliegenden Angaben über morphologische Veränderungen nach Digitalisdarreichung zusammen, so ergibt sich, daß Lewitzki[15] degenerative Veränderungen im Herzmuskel nach Zufuhr von Digitoxin und galenischen Digitaliszubereitungen sah, Hu, Lieu und Li[21] nach Strophanthin und wir nach Digitoxin und Oleandrin. Nekrosen wurden nach Gaben von Digitoxin (Büchner[2], Weese und Dieckhoff[6] u. a.), nach Strophanthin (Bauer[14], Hu, Lieu und Li[21]), nach Lanadigin und Ouabain (Hu, Lieu und Li[21]), nach Gitalin (Bauer[14]) und nach Oleandrin (Verf.) gesehen. Außerdem sind noch einige andere histologische Veränderungen im Herzmuskel nach Verabreichung von Digitaliskörpern beobachtet worden. Loewitt[22], Geisböck[23] und d'Alessandria[24] fanden, allerdings nicht einheitlich, nach der Zufuhr von Pangital, Strophanthin und Zymarin in den Herzen von Meerschweinchen und Kaninchen eine Verminderung der Oxydasegranula, Verlust der Querstreifung, an einzelnen Stellen trübe Granulierung statt der Querstreifung und eine vermehrte Einlagerung von Glykogen im Myokard. Impens[25] dagegen konnte keine Verminderung der Oxydasegranula feststellen.

Wie kann nun die Kumulation der herzwirksamen Glykoside in den verschiedenen Dosierungsbereichen im Hinblick auf die degenerativen Myokardveränderungen als ein einheitlicher Vorgang aufgefaßt werden?

[18] Weese: Digitalis, S. 156. Leipzig 1936. — [19] Cloetta u. Fischer: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **54**, 294 (1906). — [20] Neumann: Diss. Würzburg 1934, S. 16. — [21] Hu, Lieu u. Li: Chin. med. J. Suppl.-Bd. **1**, 31—42 (1936); Ref. Ber. ges. Physiol. **95**, 113 (1936). — [22] Loewitt: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **77**, 186 (1914). — [23] Geisböck: Z. exper. Path. u. Ther. **17**, 311 (1915). — [24] d'Alessandria: Zit. Lendle: Handb. exper. Pharmak., Erg.-Werk **1**, 207 (1935). — [25] Impens: Z. exper. Path. u. Ther. **19**, 205 (1918).

Nach der Injektion zeitlos letaler Glykosiddosen können bekanntlich am dritten Tage Nekrosen im Herzmuskel auftreten. Es ist nicht anzunehmen, daß die Glykoside selbst diese Gewebszerstörungen verursacht haben, da sie nach den Lendleschen Untersuchungen am dritten Tage zum größten Teil eliminiert sein dürften. Man muß also nach einer anderen Erklärung suchen und kann zu folgender Vorstellung gelangen. Unter der Einwirkung der herzwirksamen Glykoside kommt es zu einem veränderten Stoffwechsel des Herzmuskels. Dadurch fallen entweder pathologische oder in vermehrtem Maße physiologische Stoffwechselprodukte an, wenn die Einwirkung des Pharmakons entsprechend stark war. Die Zelle wird dadurch in ihrer Tätigkeit und möglicherweise auch in ihrer Gestalt verändert. Ist die gegebene Dosis sehr hoch und demzufolge auch die Menge der anfallenden Stoffwechselprodukte sehr groß, so wird das Gewebe sogar zerstört werden können. Es finden sich dann Nekrosen im Myokard. Sind dagegen die Einwirkungen der Glykoside schwächer, so werden auch die morphologischen Veränderungen entsprechend geringere sein. Man findet dann möglicherweise Degenerationen.

Wenn der Stoffwechsel der Zelle durch eine Glykosiddosis im eben angedeuteten Sinne verändert ist und eine neue in gleicher Richtung wirkende gegeben wird, so wird auch der einmal begonnene Veränderungsprozeß fortschreiten. Hat er einen bestimmten Grad erreicht, kann er auch für das Auge erkennbar sein. Man wird also je nach dem Grade der Glykosideinwirkung mehrere Stadien der Zellveränderung finden können, angefangen von dem kaum abgewandelten Zellbild bis zu schweren Degenerationen und darüber hinaus bis zur Nekrobiose und Nekrose, was wir durch unsere Untersuchungen zeigen konnten.

Überraschend ist der histologische Befund an den Herzen der Katzen Nr. 51 und 53. Bei diesen Tieren sahen wir keine Degenerationen, nur Nekrosen im Myokard. Trotz dieser schweren Veränderungen machten sie einen weniger kranken Eindruck als andere Tiere, deren Herzmuskel nur Degenerationen aufwies. Die Kumulationsreste betrugen dabei $^1/_4$ bis $^1/_3$ der HD. Daraus geht hervor, daß das klinische Bild der Versuchstiere durchaus nicht mit den histologischen Veränderungen ihres Herzmuskels und diese wiederum nicht mit den dabei gefundenen Kumulationsresten parallel gehen müssen. Auch war ein klarer Zusammenhang des Grades der Myokardveränderung mit der Dosierung aus den wenigen Versuchen nicht zu finden. Klarheit darüber zu schaffen, bleibt weiteren Untersuchungen vorbehalten.

Ob für stark toxische Dosen, die mit einer gewissen Regelmäßigkeit Nekrosen entstehen lassen, besondere Wirkungsbedingungen vorliegen, kann vorläufig nicht entschieden werden. Es ist allerdings denkbar, daß bei diesen besonders gefäßwirksame Stoffe in Erscheinung treten. So sahen Hu, Lieu und Li[21] in der Tatsache, daß sie im gefäßlosen Froschherzen keine Nekrosen, sondern nur hyaline Degenerationen fanden, einen

Beweis dafür, daß Nekrosen gefäßbedingt sind. Man kann dies aber auch in unserem Sinne deuten, nämlich, daß eine morphologische Schädigung des Myokards durch Digitaliskörper auch ohne besondere Gefäßbeteiligung möglich ist. —

Im folgenden sollen noch einige Versuchsergebnisse aus der Literatur diskutiert werden, die für die Frage der Digitaliskumulation von Bedeutung sind. Wie Lendle[7] zeigte, lassen sich für die verschiedenen Herzgifte genaue Grenzdosen bestimmen, die eben noch kumulieren. Man kann sich nun vorstellen, daß die Veränderungen der biologischen Vorgänge in der Zelle durch kleinere, also nichtkumulierende Dosen so gering und so flüchtig sind, daß sie, wenn die nächste Dosis gegeben wird, bereits abgeklungen sind, so daß bei chronischer Darreichung keine erkennbare Steigerung eintreten kann.

Nun vermögen die Glykoside aber nicht nur das Herz zu schädigen sondern auch zu höherer Leistung zu befähigen, wie aus den Untersuchungen von Weese und Dieckhoff[6] hervorgeht. Es wäre möglich, daß beiden Erscheinungen der gleiche biologische Vorgang zugrunde liegt. Bis zu gewissen Grenzen könnten dann die Veränderungen nicht nur Ausdruck einer Schädigung, sondern auch Ausdruck einer gesteigerten Funktion sein. Im ähnlichen Sinne äußert sich Aschoff[26] über die Verfettungen der Leberzelle. Er ist der Ansicht, daß die bis zu einem gewissen Grade gediehene Verfettung der Leberzelle nicht Degeneration schlechthin bedeutet, sondern das morphologische Substrat einer gesteigerten Leistung ist.

Welche Substanzen bzw. Stoffwechselprodukte könnten nun sowohl für die Leistungssteigerung als auch für die Schädigung des Herzmuskels verantwortlich gemacht werden? Auf alle die vielfältigen und zum Teil sich widersprechenden Ergebnisse über die durch Digitalis bedingten Stoffwechselprozesse im Herzen im einzelnen einzugehen, ist in diesem Rahmen nicht möglich. Wir verweisen auf die zusammenfassende Darstellung Lendles[27] und Weeses[28]. Es seien nur einige wenige erwähnt. In erster Linie ist an die Milchsäure zu denken. Edens[29] ist der Ansicht, daß der „Aufbau der Milchsäure zu ihrer Muttersubstanz durch Digitalis gehemmt wird". Bis zu einem gewissen Grade wird sie den gewünschten Effekt der Leistungssteigerung bewirken, darüber hinaus aber, wenn sie zu reichlich anfällt, Störungen des Ionengleichgewichts und somit der ganzen Zellstruktur zur Folge haben, so daß sie zur Noxe wird. Daß tatsächlich durch eine Veränderung des Milchsäurespiegels andere Funktionsverhältnisse für den Muskel geschaffen werden, geht aus den Untersuchungsergebnissen von Hill und Hartree[30] hervor. Sie konnten zeigen, daß ein

[26] Aschoff: Path. Anatomie, 5. Aufl., 1921, Bd. 1, S. 420 u. 422. — [27] Lendle: Handb. exper. Pharmak., Erg.-Werk **1**, 203 (1935). — [28] Weese: Digitalis, S. 212. Leipzig 1936. — [29] Edens: Krankheiten d. Herzens u. d. Gefäße, S. 241. Berlin 1929. — [30] Hill u. Hartree: Zit. Dieckhoff: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **182**, 299 (1936).

Muskel sich um so später erholt, in je saurerem Milieu er sich befindet. In diesem Sinne könnte man annehmen, daß auch noch andere Stoffwechselprodukte, etwa die Adenylsäure u. a., eine ähnliche Rolle spielen. So nehmen beispielsweise Riesser und Neuschlosz[31] an, daß es nach höheren Digitalisdosen zur Anreicherung von Säuren aus der Muskeltätigkeit kommt.

Ferner ist in Anbetracht der veränderten Sauerstoffausnutzung infolge der Digitaliszufuhr an eine Beeinflussung der Atmungsfermente bzw. der Sauerstoffüberträger über das gewünschte Maß hinaus als wesentlich für die Kumulation zu denken. Auch wäre eine Veränderung des Glykogengehalts in der Muskelfaser in Betracht zu ziehen (d'Alessandria[24], Lasch und Triger[32], Freund[33]).

Im einzelnen sind diese Vorgänge noch sehr unklar. Es soll auch nur auf die Möglichkeit solcher Prozesse und ihre Beziehungen zur Kumulation und den dabei entstehenden histologischen Veränderungen hingewiesen werden.

Wenn bei kurzfristiger geringer Dosierung der Herzgifte vor allem funktionelle Erscheinungen im Vordergrund stehen und morphologische Veränderungen kaum zu finden sind, so hat man im Gegensatz dazu bei stark toxischer Medikation einen eindeutigen morphologischen Befund, nämlich die Nekrosen, für die jegliche Funktion erloschen ist. In einem Stadium zwischen beiden Extremen findet man aber beide gleichzeitig, nämlich die bereits bekannten funktionellen neben den gefundenen histologischen Veränderungen. Als sicher ist also anzunehmen, daß außer der bekannten Funktionsveränderung des Herzens durch kumulierende Glykosidgaben auch formative Umwandlungen der Zelle auftreten können. Diese müssen, wie bereits erwähnt, nicht so grobe sein, wie sie beschrieben wurden. Auch kann es sich nicht etwa nur um fettige Degenerationen handeln.

Die Kumulation der Wirkung ist sichergestellt. Selbst wenn alle gegebenen Glykosidmengen schon eliminiert wären, besteht die Wirkung fort; denn die geweblichen Änderungen bedürfen längerer Zeit bis zu ihrer Rückbildung.

Es muß noch einmal darauf hingewiesen werden, daß nicht das Morphologische allein in den Vordergrund gerückt werden soll. Es ist von dem Funktionellen nie zu trennen und soll nur als Ausdruck oder Folgezustand desselben bzw. als ein in gewissen Dosierungsbereichen sich abspielender Prozeß angesehen werden.

Geht man davon aus, daß nach Digitaliszufuhr strukturelle Veränderungen im Myokard entstehen, so läßt sich eine Anzahl pharma-

[31] Riesser u. Neuschlosz: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **94**, 190 (1922). — [32] Lasch u. Triger: Z. exper. Med. **88**, 588 (1933). — [33] Freund: Verh. dtsch. pharmak. Ges. 1932, S. 73.

kologischer und klinischer Kumulationserscheinungen zwanglos erklären. Darauf soll noch kurz eingegangen werden.

Im Tierexperiment wird bekanntlich die Kumulationsgröße einer gegebenen Digitalismenge durch Bestimmung der sogenannten Auffülldosis gefunden. Je stärker die Kumulation ist, um so kleiner ist die für den Herzstillstand benötigte zusätzliche Glykosidmenge, d. h. das Myokard ist gegen weitere Glykosidzufuhr überempfindlich. In ähnlicher Weise sind nun auch Herzen, die durch andere Gifte oder ähnliches in ihrem Aufbau geschädigt worden sind, gegen herzwirksame Glykoside überempfindlich, wie dies Heubner und Hecht[34] nach Verabreichung von Phosphor, Dieckhoff und Schulze[35] nach Diphtherietoxin, Dieckhoff[36] nach Thyroxin und Schulze[37] nach Anämisieren gezeigt haben. Die morphologische Schädigung durch kumulierende Digitalisdosen kann also in bezug auf ihre funktionelle Auswirkung den obenerwähnten durch Phosphor usw. gleichgestellt werden. Die Überempfindlichkeit digitalisgeschädigter Herzen gegen weitere Glykosidzufuhr — d. i. eines der zahlreichen Kumulationszeichen — würde also wenigstens zum Teil auf einer formativen Änderung des Myokards beruhen.

In den Strukturveränderungen dürften auch Beobachtungen von van Esveld[38] und von Gold[39] ihre Erklärung finden. Sie stellten fest, daß die Kumulationsreste nach einmaliger Verabreichung verschiedener Digitalispräparate zuerst stark abfallen, dann ohne weitere Zufuhr am zweiten und dritten Tage ansteigen können und dann lange Zeit etwa gleichbleiben. Es scheint also, als ob die Digitalisempfindlichkeit mit der fortschreitenden Entwicklung der geweblichen Umgestaltung parallel geht, die, im Hinblick auf das erste Auftreten der Nekrosen, etwa am zweiten bis dritten Tage in bestimmtem Grade ausgebildet sein dürfte. Die erhöhte Digitalisempfindlichkeit sinkt dann allmählich ab, in dem gleichen Maße nämlich, wie sich die geweblichen Veränderungen zurückbilden.

Ähnlich läßt sich auch die überadditive Wirkung von zahlreichen Einzelgaben (Lendle[7], Lü[3] und eigene Versuche) erklären. Es fanden sich größere Kumulationsreste, als die Summe der Einzeldosen betrug. Trifft ein erneuter Reiz die bereits morphologisch veränderte Zelle, so wird diese Veränderung noch weitergeführt und damit das Substrat immer empfindlicher.

Mit zu den ersten kardialen Erscheinungen bei digitalisbehandelten Herzkranken gehören Rhythmusstörungen bzw. Störungen der Reizleitung, die nach Absetzen wieder verschwinden. Edens[40] sieht darin ein Zeichen

[34] Heubner u. Hecht: Nachr. Ges. Wiss. Göttingen, Math.-physik. Kl. **1926**, S. 220. — [35] Dieckhoff u. Schulze: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **183**, 561 (1936). — [36] Dieckhoff: Ebenda **182**, 293 (1936). — [37] Schulze: Klin. Wschr. **17**, 75 (1938). — [38] van Esveld: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **160**, 375 (1931). — [39] Gold: Zit. Lendle: Handb. exper. Pharmak., Erg.-Werk **1**, 117 (1935). — [40] Edens: Digitalisbehandlung, 2. Aufl., S. 144. Berlin und Wien 1934.

bereits bestehender Schädigung des Reizleitungssystems bzw. einer allgemeinen Herzschädigung, die dieses empfindlicher für die Wirkung der Digitalis macht. Dieser Empfindlichkeit dürften nach Edens durchweg entsprechende Schädigungen des Stoffwechsels, der Blutversorgung oder des anatomischen Gefüges der Gewebe zugrunde liegen. Dabei bliebe es aber ganz unentschieden, ob lokale anatomische Veränderungen etwa infolge eines Gelenkrheumatismus oder einer Pneumonie oder eine toxische Schädigung durch Digitaliswirkung den Boden zur Leitungsstörung bereiten. Auch Aschoff[41] hält es für möglich, daß den Reizleitungsstörungen während der Digitalistherapie eine gewebliche Schädigung zugrunde liegt. So wäre also auch für die Rhythmusstörungen während der Digitalisverabreichung eine durch die Glykoside selbst verursachte Strukturänderung verantwortlich zu machen. —

Die kurzfristigen Methoden der experimentellen Kumulationsuntersuchungen geben vor allem Aufschluß über die Geschwindigkeit der Bindung, des Wirkungseintritts und der Elimination der Glykoside und weniger über die Kumulationsneigung derselben. Daraus erklären sich wahrscheinlich auch die mit den sonstigen Erfahrungen über die Kumulationsneigung der verschiedenen Glykoside zum Teil nicht im Einklang stehenden Versuchsergebnisse von Mehnert[42], der u. a. bei der Katze dem Strophanthin eine höhere Kumulationsneigung zuschreibt als dem Digitoxin. Wenn man mit kurzfristigen Untersuchungsmethoden die später einsetzende „organverändernde Wirkung zugunsten der funktionsändernden Wirkung" möglichst klein halten will (Heubner und v. Nyary[11]), so schaltet man ein wesentliches Moment aus, das wenigstens nach unserer Auffassung nicht vom Begriff der Kumulation getrennt werden sollte.

Die Kumulationsgröße hängt nicht nur von der gegebenen Gesamtmenge an Glykosid ab, sondern vor allem von der jeweiligen Einzeldosis und von den zeitlichen Abständen zwischen den einzelnen Verabfolgungen. Im ähnlichen Sinne stellte Fraenkel[10] fest, daß je größer bei täglicher Zufuhr die Gaben sind und je rascher sie sich folgen, desto schneller die therapeutische in eine toxische Wirkung übergeht. Für diese Ansicht sprechen außer den bekannten Befunden von Bauer[9, 13], Lendle[43], Gold, Otto und Messeloff[44] auch unsere eigenen Beobachtungen. Wir gaben bei einer Anzahl von Katzen insgesamt über 100% der HD (Reihe 3 und 4), ohne daß der Tod eintrat, ja, wir fanden bei den Tieren der Reihe 3 nicht einmal einen Kumulationsrest. Dagegen führte die tägliche Verabreichung von 5% der HD, schon ehe die volle HD erreicht worden war, zu schweren und schwersten Kumulationserscheinungen.

Wir deuten diese Befunde in dem Sinne, daß eine Kumulationswirkung erst dann zustandekommt, wenn die Wirkung einer Dosis so lange anhält,

---

[41] Aschoff: Klin. Wschr. **12**, 1237 (1933). — [42] Mehnert: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **184**, 181 (1937). — [43] Lendle: Ebenda **169**, 392 (1933). — [44] Gold, Otto u. Messeloff: J. Pharmacol. (Am.) **48**, 274 (1933).

daß sie von einer darauffolgenden noch angetroffen und gesteigert werden kann. Dieser Effekt tritt nicht ein, wenn die Dosis zu gering ist, um eine anhaltende Wirkung — vielleicht eine Strukturveränderung des Myokards — hervorzurufen, oder wenn die Zeit bis zur nächsten Dosis zu lang ist, so daß die Wirkung inzwischen wieder abklingen konnte. Auch Lü[8] betont, daß die Kumulation nicht nur eine konzentrations- sondern auch eine zeitgebundene Reaktion ist. Einmalige stark toxische Dosen schädigen die biologischen Vorgänge im Myokard so schwer, daß ein Teil desselben zugrunde geht. Sie haben mit dem Begriff der Kumulation, einer allmählich sich anhäufenden Wirkung wiederholter Gaben, nichts zu tun.

Noch bleibt eine große Zahl von Fragen offen. So ist beispielsweise noch festzustellen, ob die gefundenen Gewebsbilder auch nach der Ausschaltung der herzbeeinflussenden Nerven entstehen, und ob es generelle kumulationsfördernde oder -hemmende Stoffe gibt, wie es Hoekstra[12] und Hoekstra und ten Kleij[45] annehmen. Ferner ist der Einfluß, den die Peripherie bei der Kumulation spielt, nach den neuesten Befunden Kingisepps und Lendles[46] noch nicht völlig geklärt, nachdem man seit Weeses[47] Untersuchungen angenommen hatte, daß ein wesentlicher Rückfluß von herzwirksamen Stoffen aus der Peripherie nicht stattfindet. — Auf die Veränderungen im Elektrokardiogramm nach Digitaliszufuhr soll hier nicht eingegangen werden.

Inwieweit die am Tier, insbesondere an der Katze gefundenen Ergebnisse auf den Menschen übertragen werden können, sei dahingestellt. Lendle[48, 49] ist der Meinung, daß der Mensch eher dem Hund als der Katze inbezug auf die Neigung zur Kumulation nahesteht. Beim herzinsuffizienten Patienten bestehen überdies von vornherein Stoffwechsel- und Strukturveränderungen, die bei den Versuchstieren nicht vorhanden sind. Edens[50] ist der Ansicht, daß es in der Klinik am kranken Herzen überhaupt keine Kumulation der Digitaliskörper gibt. Es gäbe nur eine Überempfindlichkeit des Herzens gegen Digitalis, die schon bei kleinen Dosen mit Erscheinungen, wie Bigemie o. ä. einhergehen könne.

Die von Lendle[7] aufgeworfene „dringliche Frage, ob jede Kumulation auch die in therapeutischer Dosierung durch funktionelle oder organische Schädigung des Herzmuskels bedingt ist", ist teilweise vielleicht folgendermaßen zu beantworten: Bei kumulativer Dosierung von Digitalisglykosiden können außer den bekannten funktionellen Veränderungen des Herzens auch organische des Myokards entstehen, die je nach der Dosierung über reversible Degeneration bis zur irreparablen Nekrose fortschreiten können.

---

[45] Hoekstra u. ten Kleij: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **163**, 353 (1932). — [46] Kingisepp u. Lendle: Ebenda **187**, 106 (1937). — [47] Weese: Ebenda **150**, 14 (1930). — [48] Lendle: Dtsch. med. Wschr. **62**, 1373 (1936). — [49] Lendle: Wien. klin. Wschr. **50**, 1243 (1937). — [50] Edens: Dtsch. med. Wschr. **62**, 39 (1936).

Zusammenfassung.

Bei kumulierender Dosierung von Digitoxin und Oleandrin entstehen im Katzenherzen histologische Veränderungen, die das bisher fehlende Bindeglied zwischen rein funktionellen Veränderungen des Herzens und den von Büchner gefundenen Nekrosen darstellen dürften. Es wurden in einigen Fällen nur geringfügige, eben erkennbare Verfettungen des Myokards nachgewiesen, in anderen auch schwere fettige Degenerationen, z. T. mit Übergang in Nekrose. Man hat danach bei kumulierender Verabreichung auch kleiner Dosen von Digitalis also nicht nur mit einer funktionellen, sondern auch mit einer morphologischen Veränderung des Herzens zu rechnen. Die Ergebnisse Büchners wurden damit bestätigt.

An den Gefäßen des Myokards waren keine Veränderungen zu sehen, lediglich die kontraktile Substanz war verändert. Es wird daher angenommen, daß die gefundenen histologischen Veränderungen ihren Grund vor allem in einer Änderung des Herzmuskelstoffwechsels und nicht in einer primären Störung der Zirkulationsverhältnisse haben.

Eine Anzahl der bekannten Kumulationszeichen, die auf das Herz zu beziehen sind, lassen sich durch die Auffindung degenerativer Veränderungen zwanglos erklären.

Für die Kumulationserscheinungen ist nicht nur die Größe der Einzeldosen, sondern auch die Zeit zwischen den einzelnen Gaben von ausschlaggebender Bedeutung.

Die Kumulation kleiner und großer Digitalisdosen ist als ein einheitlicher biologischer Vorgang aufzufassen.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Würzburg.
(Direktor: Prof. Flury.)

Über die Kumulation der Genine von herzwirksamen Glykosiden.

Von
Werner Lindner.

(Eingegangen am 15. Februar 1939.)

Die Genine werden heute allgemein als die eigentlichen Träger der Wirkung von herzwirksamen Glykosiden angesehen (Straub[1], Weese[2], Lendle[3]). Treten an das Genin Zucker- oder Säurereste oder beide zugleich, so ändert sich die Wirkung beträchtlich, wie dies von Straub[1], Cloetta[4], Lendle[3], Neumann[5], Neumann und Lindner[6] u. a. gezeigt werden konnte. Im Zusammenhang mit Untersuchungen über die Kumulation der herzwirksamen Glykoside haben wir auch die Frage nach der Bedeutung der Genine für die Kumulation der Digitaliskörper erneut aufgenommen.

Von verschiedenen Autoren liegen Angaben über die Haftfestigkeit von Aglukonen der Digitaliskörper am Herzen und über ihre Elimination vor, aus denen Schlüsse auf die Kumulationsfähigkeit der Genine gezogen wurden. Dresbach und Waddell[7] schließen aus ihren Untersuchungen, daß k-Strophanthidin bei der Katze schnell eliminiert bzw. unwirksam gemacht wird. De Giacomi[8] fand, daß der Gitaligeninstillstand des isolierten Froschherzens durch Auswaschen leicht zu beheben war, während nach dem Digitoxigeninstillstand oft nicht vollkommene Erholung eintrat. Außerdem mußte dabei öfter und länger ausgewaschen werden als nach der Verabreichung anderer Genine. Eine kumulative Wirkung spricht er den Geninen allerdings ab. Fischer[9] bezeichnet den durch toxische Geningaben bewirkten Froschherzstillstand als absolut reversibel. Da die Genine am Herzen nicht in nachweisbarer Menge fixiert würden, sei bei diesen Digitalisstoffen keine kumulative Wirkung zu erwarten. Eine Kumulationswirkung sei nur möglich, wenn ein hochwirksames Abbauprodukt, wie Digitoxigenin oder Strophanthidin, im Blutstrom kreist und erneut eine spezifische Herzwirkung entfaltet. Weese[10] (vgl. Straub[11]) konnte den durch Digitoxigenin hervorgerufenen Herzstillstand

[1] Straub: Biochem. Z. **75**, 132 (1916). — [2] Weese: Digitalis, S. 116, Leipzig 1936. — [3] Lendle: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **182**, 72 (1936). — [4] Cloetta: Ebenda **112**, 261 (1926). — [5] Neumann: Ebenda **185**, 329 (1937). — [6] Neumann u. Lindner: Ebenda **185**, 630 (1937). — [7] Dresbach u. Waddell: J. Pharm. and exper. Ther. **27**, 9 (1926). — [8] De Giacomi: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **117** 69 (1926). — [9] Fischer: Ebenda **130**, 111 (1928). — [10] Weese: Ebenda **150**. 14 (1930). — [11] Straub: Lane Lectures on Pharmacology, London **1931**. S. 54.

des Herzlungenpräparates durch einmaliges Auswechseln des zirkulierenden Blutes gegen frisches beheben, während dies beim durch Digitoxin erzielten Stillstand nicht gelang. Fromherz und Welsch[12] führten die geringe Wirksamkeit der Genine nach peroraler Darreichung auf ihre geringe Haftfestigkeit und große Eliminationsgeschwindigkeit zurück, die der Anreicherung der Genine am Herzen bei der langsamen Resorption entgegenwirke. In Versuchen am isolierten Froschherz stellte Lenz[13] für Digitoxin und dessen Genin eine zwar gewichtsmäßig gleiche Speicherung, aber eine erheblich verschiedene Haftfähigkeit fest. Aber auch dem Digitoxigenin kam eine deutliche Haftfähigkeit zu, während Gitoxigenin und Gitaligenin sich als vollkommen auswaschbar erwiesen. Das nach Digitoxigeninvergiftung spontan erholte Herz reagierte auf eine nachfolgende Verstärkung der Geninkonzentration überempfindlich. Die Vorbehandlung der Herzen mit lange Zeit einwirkenden unterschwelligen Geninkonzentrationen sensibilisierte dieselben für spätere Geninvergiftungen mit über der Wirkungsschwelle liegenden Dosen. Er nimmt deshalb an, daß auch die Genine bei der Kumulation mitzuwirken imstande sind. Dagegen spricht Straub[11, 14] den Geninen eine Kumulationswirkung ab, weil sie leicht zu eliminieren sind und ihnen eine Verankerungsmöglichkeit am Herzen fehlt. Die Genine sollen nach Lendle[15] auf Grund ihrer schnellen Elimination und der leichten Reversibilität ihrer Wirkung gar keine Kumulation ausüben. Er hält aber[16] eine funktionell nachwirkende Schädigung nach der Verabreichung von Aglukonen für möglich. In einer späteren Arbeit[3] prüfte er die Kumulationsfähigkeit von Strophanthidin bei der Katze und fand, daß etwa 15—20% der D. l. m. bei täglicher Verabreichung eine kumulative Nachwirkung hinterließen.

Die Frage der Kumulation von Geninen der herzwirksamen Glykoside ist also noch nicht geklärt. Wir stellten uns deshalb die Aufgabe, weitere Stoffe dieser Art hinsichtlich ihres Kumulationsvermögens zu prüfen. Dabei bedienten wir uns der Lendleschen Methodik[17], die den klinischen Verhältnissen besser angepaßt ist als kurzfristige Versuche.

Experimenteller Teil.

Für die Versuche wählten wir einwandfrei gesund erscheinende Katzen von 1,4—5,2 kg Gewicht aus, die vor der Verwendung mehrere Tage lang im Stalle beobachtet worden waren. Den Tieren wurde täglich einmal und möglichst zur gleichen Stunde eine bestimmte Menge eines Genins subcutan injiziert, und zwar 6 Tage lang. Am siebenten Tage wurde, sofern die Katzen nicht schon vor dieser Zeit zugrunde gegangen waren,

[12] Fromherz u. Welsch: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **161**, 266 (1931). — [13] Lenz: Ebenda **114**, 77 (1926). — [14] Straub: In Fraenkel: Der Weg zur rationellen Therapie, S. 46. Leipzig 1933. — [15] Lendle: Heffters Handb. exper. Pharmak. Erg.-Werk Bd. 1, S. 115. — [16] Lendle: Ebenda. Erg.-Werk Bd. 1, S. 109. — [17] Lendle: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **180**, 518 (1936).

der sogenannte Kumulationsrest durch eine intravenöse Infusion einer g-Strophanthinlösung 1 : 100000 nach de Lind van Wijngaarden bestimmt. Während der Versuchsdauer wurden die Tiere auf ihr Verhalten hin beobachtet und nach Abschluß der Versuche seziert.

Wir verwandten chemisch reines k-Strophanthidin, Digitoxigenin, Gitoxigenin und Oleandrigenin. Die Präparate wurden mir von Herrn Doz. Dr. W. Neumann, Würzburg freundlichst zur Verfügung gestellt. Auch an dieser Stelle möchte ich ihm dafür meinen besten Dank aussprechen. Um die Kumulationsfähigkeit des Oleandrigenins mit der des zugehörigen Glykosides, des Oleandrins, vergleichen zu können, unternahmen wir ähnliche Versuche auch mit Oleandrin, über dessen Kumulation bisher nur wenige Angaben vorliegen. Für die subcutanen Injektionen stellten wir bei Strophanthidin, Oleandrigenin und Digitoxigenin Stammlösungen mit reinem Alkohol im Verhältnis 1 : 1000, bei Gitoxigenin 1 : 1000 und 1 : 250 und bei Oleandrin 1 : 10000 her. Die genau abgemessenen Mengen wurden in der Spritze mit physiologischer Kochsalzlösung auf das Vier- bis Fünffache verdünnt und unmittelbar danach unter die Rückenhaut der Katzen injiziert. Ausgeprägte lokale Entzündungserscheinungen oder gar Nekrosen, wie sie Neumann[18] nach der Injektion von Gitoxigenin beobachtete, konnten wir bei keinem unserer Tiere während der Versuchsdauer oder bei der Sektion feststellen.

Die Höhe der täglichen Dosen wurde in % der subcutanen zeitlos letalen Dosis (s. c. D. l. m.) festgesetzt und immer auf das Anfangsgewicht bezogen, gleichgültig, wie sich das Gewicht der Tiere während der Versuchsdauer veränderte. Dagegen wurden die „Kumulationsreste" wie üblich nach dem Gewicht bei der Strophanthininfusion berechnet und ausgedrückt in % der Strophanthin-Hatcher-Dosis, die wir in früheren Versuchen übereinstimmend mit anderen Autoren als 0,12 mg/kg festgestellt hatten.

Als einmalige, subcutan sicher tödliche Dosis für Oleandrigenin fanden wir bei 11 Katzen mit hinreichender Genauigkeit 3 mg/kg. Dieser Wert unterscheidet sich von dem von Cloetta für Monoazetylgitoxigenin angegebenen nur wenig. Bei k-Strophanthidin, Digitoxigenin und Gitoxigenin entnahmen wir die s. c. D. l. m. der Literatur.

Um nicht allzuviele Tiere opfern zu müssen, beschränkten wir uns auf die Feststellung, ob Genine überhaupt kumulieren und wie hoch etwa die sicher kumulierenden Dosen sind. Die Ergebnisse sind in den folgenden Tabellen zusammengefaßt. Darin sind eingetragen das Gewicht bei Beginn und bei Beendigung des Versuchs, die täglich injizierte Geninmenge, die Infusionsgeschwindigkeit bei der Auffüllung mit g-Strophanthin und der „Kumulationsrest".

[18] Neumann: Diss. Würzburg 1934.

k-Strophanthidin.

Als s. c. D. l. m. nahmen wir nach den Versuchen von Lendle[3] 1,8 mg/kg an.

Tabelle 1. Kumulationsversuche mit k-Strophanthidin.

Nr.	Tiergewicht in kg		Tägliche Menge in % der D. l. m.	Infusionsgeschwindigkeit bei der Titration in ccm/kg/Std.	Kumulationsrest in % der D. l. m.	Besonderes
	1. Tag	7. Tag				
1	3,0	2,6	19	16	51	
2	3,1	2,4	17	21	34	
3	2,0	2,1	17	26	17	
4	2,7	2,1	15	26	0	
5	2,4	2,0	14	25	6	
6	2,7	2,4	14	19	13	
7	2,5	2,5	14			† 30′ nach der
8	2,3	2,6	11	17	31	2. Injektion
9	2,5	2,0	11	28	0	
10	1,4	1,4	8	40	0	
11	2,9	2,8	8	21	0	
12	2,4	2,1	6	25	0	

Als eine bei vielen Tieren gemachte Beobachtung ist zu erwähnen, daß etwa vom dritten Tage ab, kurze Zeit nach den Injektionen besonders der höheren Dosen, Erbrechen, Übelkeit und Hinfälligkeit auftraten. Der Zustand besserte sich aber innerhalb von 24 Stunden zumeist auffällig, so daß die meisten Tiere bis zur nächsten Injektion relativ gut erholt erschienen. Die Sektion der Versuchstiere ergab keine Besonderheiten.

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß etwa 15 (14—17) % der s. c. D. l. m. von k-Strophanthidin bei täglicher Injektion am siebenten Tage deutliche Kumulationswirkungen hinterlassen.

Digitoxigenin.

Der Berechnung der täglichen Injektionsmengen wurde die von Cloetta[4] bestimmte s. c. D. l. m. von 0,5 mg/kg zugrunde gelegt.

Tabelle 2. Kumulationsversuche mit Digitoxigenin.

Nr.	Tiergewicht in kg		Tägliche Menge in % der D. l. m.	Infusionsgeschwindigkeit bei der Titration in ccm/kg/Std.	Kumulationsrest in % der D. l. m.
	1. Tag	7. Tag			
13	4,2	4,0	25	14	17
14	4,1	3,9	20	14	6
15	3,3	3,1	20	13	46
16	5,2	4,9	15	10	54
17	2,5	2,3	15	20	20
18	2,9	2,9	15	19	0
19	3,4	3,6	15	14	54
20	2,2	1,9	12	23	0
21	3,8	3,3	10	16	0
22	2,6	2,3	10	22	13
23	3,4	3,3	5	17	0

Diese Katzen zeigten während der ganzen Versuchszeit durchweg keine besonders auffälligen Veränderungen ihres Verhaltens. Teilweise wurden die Tiere jedoch etwas ruhiger, fraßen weniger, liefen aber alle bis zur Infusion am siebenten Tage im Käfig umher. Erbrechen wurde niemals beobachtet. Ebenso sahen wir niemals Krämpfe auftreten, wie sie Cloetta[4], Neumann[18] u. a. beschrieben haben. Bei der Sektion wurde nichts Auffallendes bemerkt.

Der Tabelle kann entnommen werden, daß nach täglicher Injektion von etwa 15% der s. c. D. l. m. von Digitoxigenin am siebenten Tage deutliche Kumulationsreste vorhanden sind.

Gitoxigenin.

Genaue Angaben über die D. l. m. von Gitoxigenin bei subcutaner Darreichung liegen in der Literatur nicht vor. Sie wird mit > 10 mg/kg angegeben (Cloetta[4], Neumann und Lindner[6]). Höhere Dosen als 10 mg/kg können subcutan nicht gegeben werden, da das Gitoxigenin in den üblichen Lösungsmitteln zu schwer löslich ist, bzw. weil sonst toxische Wirkungen des Lösungsmittels in den Vordergrund treten. Um einen Ausgangswert für unsere Berechnungen zu haben, nahmen wir 10 mg/kg als 100% D. l. m. an.

Tabelle 3. Kumulationsversuche mit Gitoxigenin.

Nr.	Tiergewicht in kg		Tägliche Menge in % der D. l. m.	Infusionsgeschwindigkeit bei der Titration in ccm/kg/Std.	Kumulationsrest in % der D. l. m.	Besonderes
	1. Tag	7. Tag				
24	1,9	1,7	40			† am 6. Tage
25	2,1	1,8	30			† am 4. Tage
26	3,0	2,6	25	28	— 15	
27	3,2	2,6	25	19	— 2,5	
28	2,5	2,4	20	22	— 11	
29	2,0	1,8	20	29	12	
30	3,0	2,7	15	21	23	
31	2,4	1,9	15	33	0	
32	2,7	2,6	10	24	0	

Einem weiteren in der Tabelle nicht aufgeführten Tiere wurden 6 Tage lang täglich 25% der s. c. D. l. m. injiziert. Nach tagelangem sehr schlechten Allgemeinzustand zeigte es einen Kumulationsrest von 17%. Die Sektion ergab eine beiderseitige schwere käsige Pneumonie mit Pleuraempyem, rechts- und linksseitiger fibrinöser Pleuritis, während die anderen Katzen keine pathologischen Veränderungen aufwiesen.

Zur Tabelle 3 ist zu bemerken, daß bei der Strophanthininfusion am siebenten Tage bei drei Versuchstieren (Nr. 26, 27, 28) die Strophanthin-Hatcher-Dosis von 0,12 mg/kg überschritten wurde, ehe der Herzstillstand eintrat. Die bei diesen Tieren in der vorletzten Spalte angegebenen Zahlen

stellen die Strophanthinmenge, berechnet in % der Strophanthin HD, dar, die über 0,12 mg/kg hinaus verbraucht worden sind.

Auffallend war in dieser Versuchsreihe, daß fast alle Katzen ein zunehmend schweres Krankheitsbild boten. Sie lagen während der letzten Injektionstage zumeist auf der Seite, fraßen nicht, z. T. erbrachen sie und waren dyspnoisch. 2 Katzen verendeten während der Versuchsdauer. Trotz des allgemeinen Verfalls wiesen aber bei der Infusion von g-Strophanthin 2 Tiere nur geringe, 2 gar keine Kumulationsreste auf, und bei weiteren 3 Katzen bedurfte es sogar einer über die D. l. m. hinausgehenden Strophanthinmenge, ehe der Herzstillstand eintrat. Auf diese auffallenden Beobachtungen kommen wir bei der Besprechung der Versuchsergebnisse zurück.

Zusammenfassend ist festzustellen, daß beim Gitoxigenin die Tiere schon bei täglicher Injektion von 1—1,5 mg/kg schwer erkrankten und z. T. vorzeitig eingingen, daß aber trotzdem bei der gewählten Versuchsanordnung eine Kumulation bei keiner der gewählten Dosen zu erkennen war.

Oleandrigenin.

Wie bereits erwähnt, wurden für Oleandrigenin 3 mg/kg als s. c. D. l. m. gefunden.

Tabelle 4. Kumulationsversuche mit Oleandrigenin.

Nr.	Tiergewicht in kg		Tägliche Menge in % der D. l. m.	Infusionsgeschwindigkeit bei der Titration in ccm/kg/Std.	Kumulationsrest in % der D. l. m.	Besonderes
	1. Tag	7. Tag				
33	3,7	3,3	30			† am 4. Tage
34	2,3	2,3	23			† nach 17 Std.
35	1,8	1,5	20			† am 6. Tage
36	3,3	2,9	15	24	— 9	
37	4,8	3,8	12	17	17	
38	2,5	2,3	12	22	— 5	
39	2,7	2,0	12	27	33	
40	2,2	1,9	10			† am 5. Tage
41	4,0	3,3	10	16	— 6	
42	3,7	2,9	7	18	11	
43	2,9	2,0	5	23	0	
44	2,2	1,9	3	23	0	

Einem in die Tabelle nicht einbezogenen Tier wurden täglich 15% der s. c. D. l. m. injiziert. Es verendete während der Narkose am siebenten Tage. Die Sektion deckte eine ausgedehnte Bronchopneumonie auf. Eine weitere Katze, der täglich 10% der s. c. D. l. m. injiziert worden waren, ging nach der sechsten Injektion zugrunde. Die Sektion ergab eine Tuberkulose beider Lungen.

Im allgemeinen wiesen die Oleandrigenin-Katzen ähnliche Veränderungen im Verhalten auf wie die mit Gitoxigenin behandelten Tiere. Trotz der schweren Schädigungen war auch hier in zahlreichen Fällen die volle Strophanthin-HD oder sogar noch mehr davon nötig (Nr. 36, 38, 41),

um den Herzstillstand herbeizuführen. Es ließ sich ebenso wie beim Gitoxigenin auch für Oleandrigenin bei der gewählten Versuchsanordnung keine kumulierende Dosis festlegen.

Oleandrin.

Von Flury und Neumann[19] wurde für Oleandrin die s. c. D. l. m. mit 0,2 mg/kg angegeben.

Tabelle 5. Kumulationsversuche mit Oleandrin.

Nr.	Tiergewicht in kg		Tägliche Menge in % der D. l. m.	Infusionsgeschwindigkeit bei der Titration in ccm/kg/Std.	Kumulationsrest in % der D. l. m.	Besonderes
	1. Tag	7. Tag				
45	3,3	2,8	20			† am 6. Tage
46	2,7		15			† am 5. Tage
47	3,8	3,3	10			† am 7. Tage
48	2,3	2,0	10	27	33	
49	3,8	3,3	7	18	62	
50	3,6	2,9	5	20	23	
51	3,4	2,8	5	21	58	
52	3,9	3,6	3	14	41	

Die Katze Nr. 47 wurde in moribundem Zustande zur Infusion vorbereitet. Gleich zu Beginn der Narkose, nachdem erst einige wenige Tropfen Äther auf die Maske aufgegeben worden waren, setzte der Herzschlag aus. Es ist darum nicht ein typischer Narkosetod, sondern eine weitgehende Schädigung durch das verabreichte Glykosid anzunehmen. Das Tier wurde deshalb in der Tabelle mit angeführt. Außer bei den Katzen Nr. 45, 46, 47, die mit zunehmender Glykosidmenge während der Beobachtung immer schwerere Verfallserscheinungen zeigten, waren keine besonders starken Intoxikationszeichen festzustellen. Die übrigen Katzen zeigten lediglich ein ruhigeres Verhalten und eine verminderte Freßlust.

Die mit dieser Methodik gefundene kumulierende Glykosidmenge liegt bei etwa 3—5% der s. c. D. l. m.

Besprechung der Ergebnisse.

Überblickt man die Ergebnisse der Kumulationsversuche mit den Geninen, dann fällt auf, daß sich nur für k-Strophanthidin und Digitoxigenin bestimmte Werte finden ließen. Dagegen gelang dies für Gitoxigenin und sein Monoazetylderivat, das Oleandrigenin, nicht. Für das in diese Gruppe gehörige Glykosid Oleandrin war es dagegen möglich, die eben kumulierenden Mengen festzustellen. Bei Gitoxigenin und Azetylgitoxigenin lagen also besondere Verhältnisse vor. —

Als eben kumulierende Dosis wurden vom k-Strophanthidin 15% der D. l. m. gefunden. Die Menge stimmt gut mit der von Lendle[3] gefundenen

[19] Flury u. Neumann: Klin. Wschr. **14**, 562 (1935).

überein und ist doppelt so groß wie die, die er[17] für k-Strophanthin fand, wo 7,5—10% der D. l. m. bei täglicher Injektion für eine deutliche Kumulationswirkung genügten.

Ähnlich verhielt sich das Aglukon des Digitoxins. 15% der D. l. m. mußten täglich injiziert werden, um eine Kumulation zu erzielen, während für die gleiche Wirkung vom Glykosid nur 3% der D. l. m. benötigt wurden (Lendle[3, 17]).

Daraus geht hervor, daß Strophanthidin und Digitoxigenin eine mit der gewählten Methodik erkennbare, eigene Kumulationsfähigkeit besitzen, und daß dieselbe durch die Anlagerung von Zuckerresten ebenso wie die allgemeine Herzwirksamkeit gesteigert wird. Die Verbindung von Genin mit Zucker ist also nicht nur für die allgemeine Herzwirkung der Digitaliskörper, sondern auch für deren Kumulation von hoher Bedeutung. Bemerkenswert erscheint uns noch der Unterschied in den Allgemeinerscheinungen nach der Injektion von k-Strophanthidin und Digitoxigenin. Bestimmte Dosen von k-Strophanthidin beeinträchtigen etwa vom dritten Tage ab das Befinden der Tiere zwar flüchtig, aber doch weit stärker als prozentual gleich hohe von Digitoxigenin. Obwohl also die Kumulationsfähigkeit beider Körper, gemessen an der Empfindlichkeit des Herzens gegenüber g-Strophanthin, prozentual etwa die gleiche ist, überwiegen doch die Allgemeinerscheinungen des k-Strophanthidins bei weitem die des Digitoxigenins. — Daß wir nach der Verabreichung von Digitoxigenin keine Krämpfe sahen, liegt wahrscheinlich an der niedrigen Dosierung.

Ein eigenartiges Bild boten die Versuche mit Gitoxigenin und Oleandrigenin. Die Ergebnisse waren sehr überraschend. Beim Gitoxigenin waren nach Dosen bis zu 25% der D. l. m. bei der Infusion von g-Strophanthin noch keine Kumulationsreste erkennbar. Im Gegenteil wurden bei einigen Tieren mehr als 100% der sonst tödlichen Strophanthinmenge verbraucht, ehe der Herzstillstand eintrat. Die Befunde waren um so auffallender, als alle Tiere während des Versuchs zunehmend schwer erkrankten und bei etwas höheren Dosen sogar spontan eingingen.

Oleandrigenin, das sich vom Gitoxigenin chemisch nur durch einen Azetylrest unterscheidet, zeigte ähnliche, allerdings weniger ausgeprägte Verhältnisse. Auch hier ließen Dosen, die sich nur wenig von denen unterschieden, die alsbald tödlich wirkten, bei der Infusion von g-Strophanthin keine Kumulationsreste am Herzen erkennen. In drei Fällen war ein Mehrverbrauch von Strophanthin bei der Titration festzustellen, der aber noch innerhalb der Fehlergrenze liegt, während diese bei den Versuchen mit Gitoxigenin zweimal erreicht wurde.

Es liegen damit Befunde vor, die für die Pharmakologie der Herzmittel völlig ungewöhnlich sind, nämlich, daß durch häufige Verabreichung einer Substanz der Katzenherzmuskel anscheinend resistenter gegen in gleicher Richtung wirkende Stoffe wird. Man könnte diese Erscheinung als Gewöhnung bezeichnen, die bisher für die Digitaliskörper allgemein abgelehnt

wurde. Lediglich Neumann[18] hat bei seinen Versuchen an Kaninchen mit Digitoxigenin Beobachtungen gemacht, die auf eine Gewöhnung zu beziehen wären. Bei den betreffenden Tieren traten nach Vorbehandlung mit Gitoxigenin die sonst beobachteten Krämpfe später oder z. T. gar nicht auf, und die Wirkung tödlicher Dosen verlief relativ langsamer. Außerdem war die Ausscheidung von Gitoxigenin bei den vorbehandelten Kaninchen erheblich geringer als gewöhnlich.

Im Verhältnis zum Gitoxigenin waren diese Erscheinungen in unseren Versuchen beim Azetylgitoxigenin, dem Oleandrigenin, weniger scharf ausgeprägt. Noch mehr ändert sich das Bild, wenn außer dem Azetylrest noch ein Molekül Oleandrose an den Gitoxigeninkern tritt. Das daraus resultierende Glykosid Oleandrin weist die erwähnten Besonderheiten des Gitoxigenins nicht mehr auf und besitzt ebenso wie die Glykoside k-Strophanthin und Digitoxin eine deutliche Kumulationswirkung, die eine erhöhte Empfindlichkeit des Herzmuskels gegen g-Strophanthin zur Folge hat. Bemerkenswert erscheint fernerhin die Tatsache, daß bei den mit Oleandrin behandelten Katzen die Kumulationsreste meist größer waren als die Summe der injizierten Einzeldosen.

Obwohl im allgemeinen die Aglukone der herzwirksamen Glykoside leicht auswaschbar sind, ihre Wirkung leicht reversibel und ihre Eliminationsgeschwindigkeit hoch ist, zeigen doch k-Strophanthidin und Digitoxigenin eine deutliche Kumulation am Katzenherzen. Man muß deshalb annehmen, daß die letztere nicht unmittelbar von der Haftfestigkeit abhängt, sondern auf einem anderen biologischen Vorgang beruht, der allerdings je nach dem Verweilen der Substanz am Myokard gefördert oder hintangehalten werden könnte. Es dürfte sich um eine Kumulation der Wirkung handeln, d. h., trotz der raschen Ausscheidung aus dem Herzmuskel hinterlassen die Stoffe eine Wirkung, die durch weitere Mengen gesteigert werden kann. Welcher Art diese Wirkung sein könnte, ist in der voranstehenden Arbeit[20] diskutiert worden. Da nun für k-Strophanthidin und Digitoxigenin eine einwandfreie kardiale Kumulationswirkung nachgewiesen wurde, muß man diesen Aglukonen eine wesentliche Bedeutung für die Kumulation der zugehörigen Glykoside zusprechen. Die Kumulationsneigung dieser Genine wird ebenso wie die allgemeine Herzwirkung durch die Anlagerung von Zucker gesteigert.

Bei Gitoxigenin und seinen Verwandten ist dagegen ein Zusammenhang zwischen dem Kumulationsvermögen von Glykosid und Genin nicht ohne weiteres zu erkennen. Zwar reiht sich das Gitoxigenin-Glykosid Oleandrin in seinen Kumulationserscheinungen dem Digitoxin an, beim Gitoxigenin und dem ihm chemisch nahestehenden Oleandrigenin aber war bei der üblichen Methodik durch Infusion einer g-Strophanthinlösung kein Kumulationsrest festzustellen.

---

[20] Lindner: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **192**, 155 (1939).

Oleandrigenin und Gitoxigenin besitzen aber andererseits sicher kumulative Wirkungen, wie besonders die Versuchstiere lehren, die vor dem siebenten Tage eingingen. Im Gegensatz zu den Glykosiden ist aber die Schädigung durch diese Genine wohl von anderer Art. Ihr Grad kann nicht an einer Überempfindlichkeit gegen g-Strophanthin gemessen werden.

Dies nötigt zu der Annahme, daß die kumulative Wirkung bei Gitoxigenin und Oleandrigenin andere Angriffspunkte wie bei den Digitalisglykosiden bevorzugt. Ob diese Angriffspunkte auch bei der kumulativen Wirkung anderer Genine eine Rolle spielen, bleibt noch zu klären.

Zusammenfassung.

Untersuchungen über die kumulative Wirkung von Geninen herzwirksamer Glykoside liegen bisher nur vereinzelt vor. Es wurden daher entsprechende Versuche mit Digitoxigenin, k-Strophanthidin, Gitoxigenin und Oleandrigenin (Monoazetylgitoxigenin) an der Katze durchgeführt.

Es wurde 6 Tage lang täglich einmal eine bestimmte Menge des Genins injiziert und am siebenten Tage der sogenannte Kumulationsrest durch Infusion einer g-Strophanthinlösung bestimmt. Dabei zeigten Digitoxigenin und k-Strophanthidin bei täglicher Zufuhr von 15% der kleinsten tödlichen Dosis eine deutliche Kumulationswirkung. Ähnlich wie die Genine im allgemeinen erheblich schwächer wirksam sind als die entsprechenden Glykoside, so sind auch die eben kumulierenden Dosen der Genine in absoluten Mengen und auch im Verhältnis zur kleinsten tödlichen Dosis erheblich größer als bei den Glykosiden.

Bei Gitoxigenin und Oleandrigenin führten tägliche Gaben von 15—25% bzw. 7—15% der tödlichen Dosis zwar zu schweren Krankheitserscheinungen, aber zu keiner erhöhten Empfindlichkeit gegenüber g-Strophanthin. Von diesem wurden zum Teil sogar größere Mengen als üblich bis zum Herzstillstand verbraucht. Durch höhere Mengen der beiden Genine wurden die Tiere so schwer geschädigt, daß der Tod innerhalb einer Woche eintrat.

Vergleichende Untersuchungen mit Oleandrin ergaben bei der gleichen Methodik, daß sich dieses Gitoxigenin-Glykosid in bezug auf seine Kumulationsneigung und seine allgemeinen Kumulationserscheinungen dem Digitoxin anschließt. Die kumulierenden Dosen liegen bei 3—5% der kleinsten tödlichen Dosis.

Da die Bestimmung von Kumulationsresten mit g-Strophanthin bei Gitoxigenin und Oleandrigenin versagt, so scheinen bei der kumulativen Wirkung dieser Stoffe andere Angriffspunkte im Vordergrund zu stehen, als bei den Digitalisglykosiden. Die Untersuchungen liefern ein deutliches Beispiel für die mannigfaltigen Abstufungen der Wirkung bei den einzelnen Digitalisstoffen, die bei den Geninen besonders hervortreten und bei der weiteren Erforschung des Wirkungsmechanismus in der Digitalisgruppe zu beachten sind.

Aus dem Physiologischen Institut der Universität Leipzig.
(Direktor: Prof. Dr. Gildemeister.)

Ein Verfahren zur Beobachtung vasomotorischer Wirkungen an der Froschlunge und einige damit erzielte Ergebnisse*.

Von
Rudolf Voigt.

(Eingegangen am 8. Februar 1939.)

Einleitung.

Als das schönste und in mannigfachster Weise verwertbare Objekt für die Beobachtung des Blutkreislaufes am lebenden Wirbeltiere gilt von jeher die Froschlunge. Holmgren[1] hat wohl als erster eine Methode zur Beobachtung des Kreislaufes in der Froschlunge ausgearbeitet. Er hat die Lunge mit Luft aufgeblasen, hat aber schon den Gedanken gehabt, statt der Luft eine andere Gasart einzuführen, um deren Einwirkung auf den Kreislauf und die Blutkörperchen zu studieren. Merkwürdigerweise scheint aber noch niemand auf den Gedanken gekommen zu sein, die Lunge mit Flüssigkeit zu füllen, was in mehr als einer Hinsicht Vorteile bietet. Man kann dies ganz ohne Gefährdung des Lebens des Frosches tun, da der Frosch infolge einer ausgedehnten Hautatmung eine Zeitlang auf die Lungenatmung verzichten kann. Der Frosch besitzt nämlich respiratorisch tätige Hautbezirke, z. B. die Mundrachenschleimhaut, die genügen, um dem ruhenden Tiere den für den Stoffwechsel notwendigen Sauerstoff zuzuführen. Die genannten Hautbezirke erhalten durch die A. pulmo-cutanea venöses Blut und geben es arterialisiert wieder ab. Die Erfahrung hat gezeigt, daß sich mit Flüssigkeit viel bequemer ein geeigneter Füllungszustand der Lunge herstellen und aufrechterhalten läßt als mit Luft, und daß der Blutkreislauf unter diesen Bedingungen stundenlang in unverminderter Lebhaftigkeit anhält. Bei der luftgefüllten Lunge ist dies schon wegen der unvermeidlichen Austrocknung nicht möglich.

Der Plan, die mit Flüssigkeit gefüllte Froschlunge zur Beobachtung des Kreislaufes zu benutzen, wurde durch eine Untersuchung von Baus[2] nahegelegt, der die Resorption wässeriger Lösungen durch die Froschlunge untersucht hatte. Da die Lunge sehr gut Flüssigkeiten resorbiert, und diese bei der Lunge, wie bei keinem anderen Organ, mit einem ausgedehnten Kapillarsystem in Berührung kommt, lag es nahe, verschiedene vasomotorisch wirkende Stoffe direkt in das Lumen der Lunge einzuführen.

* D 15.

Hier kann man die Gefäßwirkungen auf eine verhältnismäßig einfache Weise beobachten, die vielleicht für die pharmakologische Untersuchung von Gefäßmitteln Bedeutung erlangen könnte. Jedenfalls scheint dieses Verfahren physiologischer als das von Luckhardt und Carlson u. a. angewandte, bei denen das Kreislaufsystem mit Froschringer durchspült wird, dem man das zu prüfende Pharmakon zusetzt.

Versuchsmethode.

Da die verwendeten Frösche alle ungefähr das gleiche Gewicht hatten, können die mit einer bestimmten Dosis bei verschiedenen Tieren erzielten Ergebnisse unmittelbar miteinander verglichen werden. Die Einflüsse von Temperatur, Jahres- oder Tageszeit auf die Ergebnisse glaube ich dadurch hinreichend ausgeglichen zu haben, daß ich stets eine ganze Reihe von Versuchen unter den verschiedensten Bedingungen gemacht habe. Als Vorbild diente mir die schon oben erwähnte Methode von Holmgren[1]. Zur Narkose verwendete ich Urethan 20%ig. Zum Anfüllen einer Lunge muß eine Kanüle in den Larynx eingeführt und befestigt werden. Dazu wird vorher um die Stimmritze herum eine Tabaksbeutelnaht gelegt. Ich umsteche die Glottis mit einigen Stichen, die durch die Schleimhaut 3 mm von der Glottis entfernt gehen und den Knorpel unversehrt lassen. Aus zwei Gründen, die ich später erwähnen will, binde ich nun vor dem Einführen der Kanüle die rechte Lunge mit einer Ligatur ab. Ich öffne dazu mit der Schere die rechte Flanke des Tieres. Nach dem Abbinden der rechten Lunge wird diese Schnittwunde wieder durch Naht verschlossen. Nun komme ich zu der Öffnung der linken Bauchseite und Freilegung der linken Lunge. Dies muß so weit wie möglich geschehen, damit nicht dann bei der mikroskopischen Untersuchung Lungengefäße abgeklemmt werden. Dem auf dem Rücken liegenden Frosch öffne ich den linken Seitenlymphsack dicht über der Schenkelbeuge und verlängere den Schnitt in Richtung Achselhöhle. Am oberen und unteren Ende dieses Längsschnittes wird senkrecht zu diesem Haut und Muskulatur in Richtung nach dem Rücken zu durchtrennt. Im Wege liegende Blutgefäße müssen geschont oder abgebunden werden (V. cutanea magna). Der gebildete Lappen wird nach dem Rücken zu umgeklappt und durch Naht befestigt.

Jetzt führe ich in die Glottis die Kanüle so ein, daß sie ein Stück in die linke Lunge hineinragt. Ich benutzte Glaskanülen von ungefähr 4 mm Dicke, die etwa 1,5 cm vom distalen Ende entfernt eine Einschnürung hatten, die von der Tabaksbeutelnaht umfaßt wurde. Wird jetzt fest zugeknotet, so liegt das distale Ende der Kanüle etwa in der Mitte des Lungenlumens. Ich lege jetzt den Frosch mit dem Rücken nach unten auf eine Glasplatte und diese auf den Objekttisch des Mikroskops, so daß der Kopf mit einem an die Kanüle angeschlossenen Schlauchsystem nach rechts zeigt. Die zur Beobachtung benutzte linke Lunge kommt nun zu liegen in Richtung auf den Beobachter, das Schlauchsystem wird an einem Stativ

so befestigt, daß es von der Lunge aus schwach ansteigend verläuft, so daß mit Leichtigkeit Luft, die noch in der Lunge verblieben ist, nach oben entweichen kann.

Bei einem mittelgroßen Frosch von ungefähr 75 g genügen ungefähr 4,5 ccm Flüssigkeit, um die Lunge gut zu füllen, so daß sie genügend durchsichtig ist, und doch die Blutzirkulation nicht behindert wird.

Die Pharmaca appliziere ich in der Weise, daß ich mit einer 1-ccm-Rekordspritze 0,5 ccm von der jeweiligen Lösung zu den bereits in der Lunge befindlichen 4,5 ccm Froschringer hinzugebe, durch wiederholtes Zurückziehen und Vorschieben des Stempels mit dem Lungeninhalt mische und dann wieder 0,5 ccm abzapfe. Ich erhalte dadurch jedesmal eine 10fache Verdünnung der 0,5 ccm eingeführten Lösung. An dieser Stelle möchte ich noch eine oben erwähnte Maßnahme begründen: Ich hatte die rechte Lunge abgebunden. Dies hatte zwei Vorteile. Erstens wird die Durchblutung der zu untersuchenden Lunge besser sein, zweitens wird vermieden, daß ein unbekannter Bruchteil der eingeführten Lösung in die rechte Lunge abfließt. Denn es ist außerordentlich wichtig, daß immer die gleiche Menge Flüssigkeit in der Lunge vorhanden ist, da der Füllungsgrad der Lunge den Blutstrom stark

Tabelle 1.

Adrenalin %	Erweiterung	Keine Gefäßwirkung	Verengerung
0,000 001	(1) E	(2) E (1) Ac	
0,000 01	(1) E	(2) E	
0,000 1	1 (1) E (2) Ac	(1) E (1) Ac	
0,001	5 (2) E (3) Ac		
0,002	1 (1) Ac		
Acetylcholin			
0,000 000 35		2	
0,000 003 5	(6) Ac*	(2) E (2) Ac* (2) Ad (1) Atr	7
0,000 035		(3) Atr	6 (1) E (3) Ad
0,000 35		(1) Atr	(1) Ad (1) Atr
0,003 5	(1) Atr	(2) Atr	
Ergotamin			
0,000 000 1		1	1
0,000 001		(2) Ad	3 (1) Ad
0,000 01		(1) Ad	2
0,000 1		(1) Ad	2
0,001			1
Atropin			
0,000 000 5	1	(1) Ac	
0,000 005	2 (1) Ac	(1) Ac	
0,000 05	2		
0,000 5	2 (2) Ac		

Die eingeklammerten Zahlenwerte beziehen sich auf Versuche, bei denen vorher ein anderes Gefäßmittel eingebracht worden war. (Ac = Acetylcholin, Ad = Adrenalin, Atr = Atropin, E = Ergotamin.)

* Hier hatte vorher eine 10mal so starke Acetylcholinlösung eingewirkt.

beeinflussen kann. Aus diesem Grunde bin ich auch davon abgekommen, einen Flüssigkeitsstrom durch die Lunge in der Weise durchzuleiten, daß ich ihn vom Larynx aus einführte und durch eine in die Lungenspitze eingebundene zweite Kanüle abfließen ließ. Durch mehrfach wiederholtes Einführen frischer Ringerlösung zwischen den einzelnen Versuchen wurden die vorher angewandten Gefäßmittel möglichst vollständig entfernt. Die Kontrolle etwa vorhandener Wirkungen des von der Lunge resorbierten Pharmakons auf den Herzschlag und auf andere Blutgefäßbezirke erfolgte in der Weise, daß die Schlagfrequenz des Herzens vor und nach dem Einfüllen der Lösung mit Hilfe einer Sekundenuhr bestimmt und außer dem Lungenkreislauf auch der Kreislauf in der Schwimmhaut durch ein zweites Mikroskop beobachtet wurde. Die Schwimmhaut habe ich dazu ganz lose über einen durchlochten Kork gespannt und mit Igelstacheln befestigt.

Die Versuche.

1. Versuche mit Adrenalin.

Als Stammlösung diente mir eine Suprarenin. hydrochlor.-Lösung 1 : 1000 in 0,9 %iger steriler Kochsalzlösung (Konservierungsmittel: 0,4 %iges Acetonchloroform) von der Firma Bayer. Von dieser Lösung wurden, immer in Zehnerpotenzen steigend, Verdünnungen mit Froschringer von 0,01 % bis zu 0,00001 % Adrenalingehalt hergestellt und davon jeweils 0,5 ccm zu den in der Lunge befindlichen 4,5 ccm Froschringer hinzugegeben. Dadurch erhielt ich nochmals eine 10fache Verdünnung, so daß also meine Lösungen von 0,000001 % bis zu 0,001 % Adrenalingehalt anstiegen. Bei sämtlichen Verdünnungen, in die Lunge appliziert, erhielt ich eine Erweiterung der kleinen Arterien, Arteriolen und der Kapillaren. Es füllten sich alle Gefäße strotzend, und es hatte den Anschein, als wenn die Lunge plötzlich viel mehr und schneller fließendes Blut enthielte. Wenn aus irgendeinem Grunde vor der Applikation Stasen in den Kapillaren vorhanden waren, so wurden diese durch Adrenalin in kurzer Zeit gelöst. Die Wirkung nimmt ab mit der Verdünnung.

Um festzustellen, in wieweit die stärkere Durchblutung der Lunge auf lokale Wirkung des Adrenalins zu beziehen sei, und inwieweit Einwirkungen auf Herzschlag und Körperkreislauf mitspielten, beobachtete ich in einigen Fällen an einem zweiten Mikroskop gleichzeitig bei demselben Frosch die Schwimmhaut. Auch zählte ich die Pulsschläge. Bei einer stärkeren Durchblutung der Lunge durch Adrenalinwirkung erhielt ich auch in den Gefäßen der Schwimmhaut eine stärkere Blutfülle. Doch ist diese Zunahme an Blut bei beiden Organen nicht auf eine höhere Herzfrequenz zurückzuführen; denn der Puls blieb nahezu konstant. Vielleicht rührt sie von einer erhöhten Amplitude des Herzschlages oder von Kontraktionen von Gefäßen in anderen Körperteilen des Tieres her.

2. Versuche mit Acetylcholin.

Als Stammlösung wurde eine 0,035 %ige Acetylcholinlösung verwendet. Auch hier habe ich mir Verdünnungen bis 0,0000035 % Acetylcholingehalt

hergestellt. Ich erhielt bis 0,0000035% eine deutliche Verengerung der kleinen Arterien und Arteriolen. Die Verengerung ist sehr eindrucksvoll. Man sieht sehr deutlich, wie sich eine innerste Membran der kleinen Gefäße nach dem Lumen hin bewegt, während die außen an den Gefäßen anliegenden Pigmentzellen ihre Lage behalten und so einen festen Bezugspunkt darstellen. Diese Gefäßwirkung habe ich binnen 2 Minuten schon feststellen können, es muß sich also mit Bestimmtheit um eine lokale Wirkung an den Gefäßen handeln. Die kleinen Arterien werden ganz blutleer, und da an den Venen keine Wirkung festzustellen ist, in ihnen vielmehr das Blut noch sehr gut fließt, hat das Ganze den Anschein, als wenn die Venen das ganze Kapillarfeld leerpumpten. Neues Blut kann nur in ganz beschränktem Maße nachfließen, da die zuführenden Arterien verengt sind. Trotzdem erhalten die Venen immer noch genügend Blut, da offenbar irgendwo noch Stellen vorhanden sind, an denen die Kontraktion der kleinen Arterien und arteriellen Kapillaren noch nicht so weit fortgeschritten ist. Vielleicht besteht eine elektive Wirkung des Acetylcholins auf einige Arterien, vielleicht hängt es mit dem anatomischen Bau der Froschlunge zusammen, daß an einigen Stellen kaum eine Wirkung des Acetylcholins zu verspüren ist.

Auch hier scheint die Wirkung stets mit der Verdünnung abzunehmen. Eine Umkehr der Wirkung bei einer bestimmten Konzentrationsgrenze habe ich jedenfalls nicht beobachten können. Dagegen ist mir aufgefallen, daß nach Einwirkung einer 0,000035%igen Acetylcholinlösung eine 10mal schwächere Lösung unwirksam zu sein schien, obwohl diese Konzentration sonst stets eine deutliche Verengerung ergeben hatte. Die Versuche verliefen so, daß die durch die stärkere Lösung erzeugte Gefäßkontraktion zunächst durch Ausspülen der Lunge mit reiner Ringerlösung beseitigt, und hierauf eine 0,0000035%ige Acetylcholinlösung eingefüllt wurde. Diese blieb in 2 Fällen völlig wirkungslos, in 6 Fällen trat eine deutlich stärkere Durchblutung der Lunge ein. Die gleiche Lösung, bei frischen Tieren angewandt, erzeugte dagegen in 7 eigens zur Prüfung dieser Konzentration angestellten Versuchen stets eine Gefäßverengerung.

Bei gleichzeitiger Beobachtung von Lungenkreislauf, Schwimmhautgefäßen und Puls ergab sich, daß das Fließen des Blutes in den Schwimmhautgefäßen schneller wird, während die Pulsfrequenz nahezu konstant bleibt. Offenbar wird die Durchblutung der Schwimmhaut durch die Abdrosselung der Lungengefäße erhöht.

3. Versuche mit Ergotamin.

Hier verwendete ich eine Ergotaminlösung zu 0,1% von der Firma Sandoz. Wiederum stellte ich mir Verdünnungen bis zu 0,000001% Ergotamingehalt her. In sämtlichen Verdünnungen erhielt ich eine Gefäßverengerung, ähnlich wie bei Acetylcholin, doch nicht so ausgeprägt und nicht so prompt auftretend. Mit stärkerer Verdünnung nahm die Wir-

kung ab. Bei 0,0000001% war die Wirkung nur noch sehr schwach, in einem Falle überhaupt nicht mehr festzustellen.

Bei der gleichzeitigen Betrachtung von Lunge und Schleimhaut ergab sich in den Schwimmhautgefäßen eine Verminderung der Strömungsgeschwindigkeit, die sich aber durch eine gleichzeitige Verminderung der Pulsfrequenz leicht erklären läßt.

4. Versuche mit Atropin.

Mir diente als Stammlösung eine 0,005%ige Atropinlösung. Auch diese Lösung verdünnte ich bis zu 0,000005%. Wurde sie in die Lunge hineingebracht, so entstand eine stärkere Durchblutung der Lunge mit Gefäßerweiterung. Eine 0,0000005%ige Lösung war noch wirksam.

Bei nebenhergehender Beobachtung der Schwimmhaut ergab sich, daß die Gefäße auch hier eine stärkere Durchblutung erhielten. Da hierbei die Pulsfrequenz gestiegen war, wird die stärkere Durchblutung wohl mit vom Herzen aus bedingt sein. Auch für die Lungendurchblutung muß es offen gelassen werden, inwieweit sie durch die Beschleunigung der Herztätigkeit bedingt ist.

5. Die gegenseitige Beeinflussung der Gefäßmittel.

Adrenalin nach Ergotamin. 1905 wurde von Dale[3] entdeckt, daß zwischen Ergotamin und Adrenalin antagonistische Wirkungen bestehen. Alle fördernden Adrenalinwirkungen werden durch Vorbehandlung mit Ergotamin unterdrückt, alle hemmenden bleiben erhalten. Ich konnte in meinen Versuchen folgendes feststellen: Ergotaminzusatz zu der in die Lunge gefüllten Ringerlösung gab eine Blutgefäßkontraktion, die auf wiederholtes Ausspülen der Lunge mit reiner Ringerlösung kaum zurückging. Wurde dann adrenalinhaltiger Ringer eingefüllt, so wurden die Kontraktionen in 5 Fällen aufgehoben, in anderen 5 Fällen trat diese Wirkung nicht ein, bisweilen schienen die Kontraktionen sogar zuzunehmen. Da sonst durch Adrenalin die Durchblutung der Lunge gefördert wird, könnte man also in diesen Fällen von einer „Adrenalinumkehr" sprechen.

Adrenalin nach Atropin. Applikation von Adrenalin auf Gaben von Atropin bewirkt eine Verstärkung der Adrenalinwirkung. Dieser Befund stimmt mit den Untersuchungen von Cori[4] überein, denen zufolge Atropin durch Ausschaltung der tonischen Einflüsse der parasympathischen Zentren die Adrenalinwirkung da begünstigen kann, wo der Sympathicus der Antagonist des Parasympathicus ist.

Adrenalin nach Acetylcholin. Adrenalin hebt nach meinen Versuchen die vasokonstriktorische Wirkung von Acetylcholin auf. Es werden die Stasen, die von Acetylcholin gesetzt wurden, aufgelöst, und ein normales Fließen des Blutes entsteht wieder.

Acetylcholin nach Adrenalin. Acetylcholin scheint rein antagonistisch gegenüber Adrenalin zu wirken, denn es wirkt auch nach Adrenalin-

gabe gefäßverengernd, wenn es in hinreichend starker Konzentration gegeben wird. Auch Trendelenburg[5] vermutet, daß Cholin an den Organen, die durch sympathische und parasympathische Fasern antagonistisch innerviert sind, den sympathischen Erregungsmitteln entgegenwirkt.

Acetylcholin nach Atropin. Wenn vorher in die Lunge Atropin appliziert war, so scheint Acetylcholin gar keine Wirkung auf die Gefäße zu haben. Jedenfalls werden keine Gefäße kontrahiert. In einem Falle bewirkte sogar eine starke Acetylcholindosis von 0,003 % eine noch bessere Durchblutung der Lunge. Es scheint also in starken Dosen Atropin eine Acetylcholinumkehr hervorrufen zu können.

Acetylcholin nach Ergotamin. In den zwei mit dieser Kombination durchgeführten Versuchen war nach der Durchspülung der Lunge mit frischem Ringer die von Ergotamin verursachte Kontraktion nicht wieder zurückgegangen. An dieser Kontraktion änderte sich auch nichts, als nun Acetylcholin in die Lunge gebracht wurde.

Ergotamin nach Adrenalin. Es scheint auch das Adrenalin eine Ergotaminumkehr zu machen. Denn in vier Fällen bewirkte Ergotamin nach Adrenalinapplikation entweder überhaupt nichts, oder sogar eine schwache Erweiterung der Lungengefäße.

Atropin nach Acetylcholin. In 3 Fällen wurde die von Acetylcholin verursachte Gefäßkontraktion durch Atropin aufgehoben, in 2 Fällen hatte es überhaupt keine Wirkung an den Lungengefäßen.

Diskussion der Ergebnisse.

Die in meinen Versuchen am Lungenkreislauf des Frosches beobachteten Wirkungen vasomotorisch wirksamer Stoffe sind kurz zusammengefaßt folgende: Adrenalin bewirkt in allen untersuchten Konzentrationen eine Gefäßerweiterung, Acetylcholin dagegen erzeugt stets eine Gefäßverengerung, Ergotamin auch eine Verengerung, während durch Atropin die Gefäße erweitert werden.

In der überwiegenden Zahl der Untersuchungen, die bisher mit Gefäßmitteln angestellt wurden, ist das Pharmacon unmittelbar in den Blutstrom eingeführt bzw. das Blutgefäßsystem mit einer Lösung durchspült worden, die den wirksamen Stoff enthielt. Bisweilen ist auch die lokale Wirkung des Mittels durch Aufträufeln der Lösung auf gefäßhaltige Gewebe geprüft worden. Meine Versuchsmethode läßt sich mit der letztgenannten am besten vergleichen.

Die Gefäßwirkung des Adrenalins ist noch sehr umstritten. An den Kapillaren der Schwimmhaut, des Mesenteriums oder der Nickhaut des Frosches wurde mehrfach eine Verengerung beobachtet, doch ist es nicht bewiesen, ob es sich hierbei um eine aktive Kontraktion der Kapillaren handelt. Elliot[6] vermißte bei der Einwirkung von Adrenalin auf die Schwimmhaut, das Mesenterium oder die Nickhaut des Frosches jede Kapillarverengerung, auch Klemensiewicz[7] betont, daß sich nach

intravenöser Einspritzung von Adrenalin zwar zahlreiche kleinste Arterienästchen, dagegen keine Kapillaren des Mesenteriums, der Nickhaut, der Harnblase und der Darmhaut verengern. Nach Krogh[8] erzeugt die auf eine Kapillarschlinge bestimmter Gefäßgebiete, z. B. der Zunge, beschränkte Einwirkung von Adrenalin nicht nur keine Verengerung, sondern sogar eine starke Erweiterung. Es wurden aber sehr starke Konzentrationen (1 : 1000) angewandt. Im allgemeinen wird die Adrenalinwirkung mit einer reinen Sympathicuswirkung gleichgesetzt, sie sollte also Verengerung der Gefäße hervorrufen. Doch Trendelenburg[9] sagt, die Frage nach der Wirkung auf nicht sympathisch innervierte Organe sei noch nicht zu beantworten. Nach Luckhardt und Carlson[10] kann Adrenalin auch eine gewisse parasympathische Wirkung äußern. Nach ihnen hat es auf die Lungengefäße des Frosches und der Schildkröte bei künstlicher Durchströmung der Lungengefäße mit adrenalinhaltiger Lösung einen verengernden Einfluß, obwohl diese Gefäße nach ihnen keine sympathischen, sondern parasympathische Konstriktorennerven haben. Klemensiewicz[7] behauptet, Adrenalin habe überhaupt keine Wirkung auf die Lungengefäße des Frosches. Nach Adler[11] haben die Lungengefäße bestenfalls eine sehr geringe Adrenalinempfindlichkeit, und Wertheimer[12] gibt an, daß sie sich überhaupt nicht verengern; bei hohem Gefäßtonus können sogar schwache Konzentrationen erweiternd wirken. Auch Luckhardt und Carlson[10] bestätigen, daß geringe Konzentrationen, besonders bei hohem Gefäßtonus, Erweiterungen hervorrufen können. Jedenfalls habe ich eine deutliche Erweiterung der kleinen Arterien, Arteriolen und Kapillaren gesehen, die unter meinen Versuchsbedingungen doch wohl als direkte, lokale Adrenalinwirkung angesehen werden muß. Daß eine direkte Wirkung auf die Kapillaren auch beim Menschen nicht von der Hand zu weisen ist, zeigen die Untersuchungen von Catton, Slade und Lewis[13]. Nachdem ein Arm bis zum völligen Zirkulationsstillstand umschnürt worden war, erfolgte eine Einspritzung in die Haut. Die nun eintretende lokale Erblassung muß durch aktive Kapillarverengerung verursacht sein; denn ein passives Leerlaufen der Kapillaren wäre nur möglich gewesen, wenn die kleinen Arterien und Venen die Möglichkeit gehabt hätten, sich zu entleeren. Sollte die Annahme von Luckhardt und Carlson[10] stimmen, daß die Lungengefäße parasympathische Konstriktoren haben, so wären meine den Angaben der genannten Autoren widersprechenden Befunde mit der allgemein gültigen Ansicht in Einklang zu bringen, daß Adrenalin sympathicuserregend wirkt, und man brauchte dann nicht von einer parasympathischen Wirkung des Adrenalins bei den Lungengefäßen des Frosches zu sprechen.

Ich habe mich im vorstehenden auf eine Zusammenstellung der Angaben über den Adrenalineinfluß auf den Lungenkreislauf von wechselwarmen Wirbeltieren beschränkt. Die Literatur über entsprechende Untersuchungen am Warmblüter findet sich bei Trendelenburg[9] zu-

sammengestellt. Es ergibt sich daraus kein ganz einheitliches Bild von der Wirkung des Adrenalins auf die Lungengefäße, doch sprechen die Beobachtungen im allgemeinen für eine erweiternde Wirkung. Toyama[21], der die Wegsamkeit einzelner Kapillarbezirke beim Kaninchen in der Weise untersuchte, daß er Lithionkarminlösung in die Ohrvene einspritzte und dann die Vitalfärbung an mikroskopischen Präparaten beobachtete, konnte nach Adrenalingabe eine deutliche Vermehrung der mit Farbstoff gefüllten Lungenkapillaren, also eine Aktivierung normalerweise nicht blutführender Kapillaren feststellen.

Dem Acetylcholin wird im allgemeinen eine parasympathische Wirkung zugesprochen, die aber noch nicht bewiesen ist. Trendelenburg[14] hat am Warmblütler starke Drucksenkung durch starke Hautgefäßerweiterung festgestellt. Krogh[8] beobachtete eine Erweiterung der Arteriolen des Frosches bei lokaler Einwirkung von Acetylcholin (1 : 20000), während die Kapillaren ihren Durchmesser kaum veränderten. Auch Doi[15] gibt an, daß Acetylcholin i. v. beim Frosch eine Drucksenkung hervorruft. Diese geht mit einer Volumenzunahme der Extremitäten einher und beruht daher auf peripherer Gefäßerweiterung. Dagegen geben Amsler und Pick[16] an, daß Perfusion der Gefäße der Extremitäten und des Splanchnicusgebietes des Frosches mit acetylcholinhaltiger Lösung eine mächtige Gefäßkontraktion hervorruft. Nach Teschendorf[17] und Voss[18] soll es jedoch von der Wasserstoffionenkonzentration bzw. dem Verhältnis von K : Ca in der Durchspülungsflüssigkeit abhängen, ob das Acetylcholin beim Frosch gefäßverengernd oder erweiternd wirkt.

Für das Ergotamin gibt Cushny[19] an, daß es eine periphere Wirkung habe und die Gefäße des Splanchnicusgebietes, der Extremitäten und der Haut kontrahiere. Dabei wird der Blutdruck gesteigert; die Lungengefäße sollen nicht verengert werden.

Das Atropin gilt allgemein als parasympathicuslähmend. Doch soll beim Frosch nur in hohen Dosen eine Herzbeschleunigung festzustellen sein; es soll nach Kobert[20] den Ausfluß aus den Venen erhöhen, indem es die Arterien erweitert. Sollte die Annahme von Luckhardt und Carlson[10], daß die Lungengefäße des Frosches ihre gefäßverengernden Nervenfasern vom Parasympathicus erhalten, richtig sein, so erhielte man also bei einer parasympathicuslähmenden Wirkung des Atropins eine Erweiterung der Lungengefäße. Dies würde mit meinen Versuchsergebnissen übereinstimmen.

Zusammenfassung.

Die Wirkung verschiedener Pharmaca auf die Lungengefäße des Frosches wurde in der Weise untersucht, daß die linke Lunge mit einer Ringerlösung angefüllt wurde, die den Stoff enthielt, der geprüft werden sollte. Der Blutkreislauf wurde an der mit Flüssigkeit angefüllten Lunge unter dem Mikroskop beobachtet. Technische Einzelheiten sind aus dem Text zu ersehen. Die wesentlichen Beobachtungen sind folgende:

1. Adrenalin bewirkt in Verdünnungen von 0,001 % bis 0,000001 % eine Gefäßerweiterung der Lungengefäße mit einer starken Durchblutung der Lunge. Die Wirkung nimmt ab mit steigender Verdünnung. Vorhergehende Applikation von Ergotamin veranlaßt eine „Adrenalinumkehr". War vor dem Adrenalin Atropin gegeben worden, so hat dies eine Verstärkung der Adrenalinwirkung zur Folge. Die durch Acetylcholin erzeugte Stase wird von Adrenalin aufgehoben, und eine kräftige Durchblutung wird herbeigeführt.

2. Acetylcholin bewirkt in Verdünnungen von 0,0035 % bis 0,00000035 % eine Verengerung der Lungengefäße, die durch Ausspülen der Lunge mit reiner Ringerlösung aufgehoben werden kann. Die Wirkung nimmt ab mit steigender Verdünnung. Bei vorhergehender Applikation von Adrenalin wirkt Acetylcholin antagonistisch.

Nach Atropin bleibt Acetylcholin in schwachen Konzentrationen wirkungslos, in starken scheint eine Umkehr der Acetylcholinwirkung einzutreten.

3. Ergotamin bewirkt in Verdünnungen von 0,001 % bis 0,0000001 % eine Gefäßverengerung, doch nicht so deutlich und so prompt auftretend wie bei Acetylcholin. Diese Wirkung ist durch oft wiederholtes Ausspülen der Lunge mit reiner Ringerlösung nicht zu beseitigen . Die Wirkung nimmt ab mit zunehmender Verdünnung. Bei vorhergehender Applikation von Adrenalin erhielt ich in einigen Fällen keine deutliche Wirkung, vielleicht sogar eine Umkehr der Ergotaminwirkung.

4. Atropin bewirkt in Verdünnungen von 0,0005 % bis 0,0000005 % eine Gefäßerweiterung. Auch hier nimmt die Wirkung mit steigender Verdünnung ab. Bei vorhergehender Applikation von Acetylcholin waren schwache Dosen von Atropin wirkungslos, stärkere hoben die von Acetylcholin verursachten Stasen auf.

Literatur.

1) Holmgren: Beitr. zur Anat. u. Physiol. Festgabe für C. Ludwig, Leipzig. 1875, S. 33—50. — 2) Baus: Inaug.-Diss. Med. Fak. Leipzig 1937. — 3) Dale, H. H.: J. Physiol. (Brit.) **32**, 58 (1905); **34**, 163 (1906); **46**, 291 (1913). — 4) Cori, K.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **91**, 130 (1921). — 5) Trendelenburg, P.: In Heffter, Handb. d. exper. Pharm. I, S. 593. — 6) Elliot, I. R.: J Physiol. (Brit.) **32**, 401 (1905). — 7) Klemensiewicz, R.: In Abderhaldens Handb. d. biol. Arbeitsmeth., Abt. 5, Teil 4, H. 1 (1921). — 8) Krogh, A.: J. of Physiol. **53**, 399 (1920); **55**, 412 (1921). — 9) Trendelenburg, P.: Die Hormone, Bd. I, S. 228, 277ff. — 10) Luckhardt, A. B., u. A. J. Carlson: Amer. J. Physiol. **56**, 72 (1921). — 11) Adler, L.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **91**, 81 (1921). — 12) Wertheimer, E.: Pflügers Arch. **196**, 142 (1922). — 13) Catton, Slade, Lewis: Heart **6**, 227 (1917). — 14) Trendelenburg, P.: In Heffter, Handb. d. exper. Pharm. I, S. 596. — 15) Doi, Y.: J. Physiol. (Brit.) **54**, 227 (1920). — 16) Amsler, C., u. E. P. Pick: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **85**, 61 (1920). — 17) Teschendorf, W.: Biochem. Z. **118**, 267 (1921). — 18) Voss, O.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **116**, 367 (1931). — 19) Cushny, A. R.: In Heffter, Handb. d. exper. Pharm. II, 2, S. 1314. — 20) Kobert, R.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **22**, 78 (1887). — 21) Toyama, K.: Z. exper. Med. **46**, 168 (1925).

Aus den wissenschaftlichen Laboratorien der Ciba, Basel.

Verbesserte Versuchsanordnung für Arbeiten mit dem isolierten Säugetierherzen.

Von

Fr. Uhlmann und **Fr. Nobile.**

Mit 6 Textabbildungen.

(Eingegangen am 5. Februar 1939.)

Die vielfachen Veränderungen der von Langendorff angegebenen Versuchsanordnungen für das isolierte Säugetierherz hatten im wesentlichen den Grund, für die Prüfung von Arzneimitteln Bedingungen zu schaffen, unter denen mit Sicherheit alle Einwirkungen außer derjenigen des Medikamentes ausgeschlossen werden sollten.

Die verschiedenen Apparaturen, wie sie von Wohlgemuth, Winterstein, Brodie und Cullis, Gunn und in neuerer Zeit besonders von Heubner und Mancke, später auch mit weiteren Modifikationen von Orzechowski angegeben wurden, bezwecken, die Nährlösung mit den verschiedenen Giften ohne Zeitverlust und unter Gewährleistung möglichst konstanter Bedingungen dem Herzen anzubieten. Ein besonderes Ziel verfolgen die Modifikationen der in die Aorta eingebundenen Kanüle. Roessler, Staub, Orzechowski, Riegler und andere Autoren suchten dadurch zu erreichen, daß die Nährlösung dem Herzen unter möglichst physiologischen Bedingungen zuströmt.

Da das isolierte überlebende Säugetierherz auf jede, auch minimale Änderung in den physikalischen und chemischen Eigenschaften der Durchspülungsflüssigkeit sofort mit Änderungen seiner Tätigkeit antwortet, so ist immer das Bestreben vorhanden, diese variablen Größen so weit wie möglich ständig unter Kontrolle zu haben und für die verschiedenen Untersuchungen immer so weit wie möglich konstant zu halten.

Die konstant zu haltenden Bedingungen sind im wesentlichen folgende: Temperatur, Druck, Nährlösung. Während die ersten beiden in verschiedenen Anordnungen verwirklicht sind, ist die Konstanz der „Nährlösung" schwieriger zu garantieren. Für eine physiologisch optimale Nährlösung ist die Konstanz folgender Faktoren notwendig: Osmotischer Druck, Ionengehalt in relativer und absoluter Hinsicht, Sauerstoffgehalt und (H)-Ionenkonzentration.

Auf die Konstanz dieser Bedingungen haben besonders Heubner und Mancke Wert gelegt. Spätere Untersucher, die mit der Versuchsanordnung von Heubner und Mancke gearbeitet haben, sahen, daß beim Umschalten von einer zu einer anderen Vorratsflasche plötzliche,

zunächst nicht ohne weiteres leicht zu deutende Änderungen in dem Coronardurchstrom auftraten. Die Erklärung dieser Schwankungen ist bisher nicht gegeben worden; auch wir bemerkten sie beim Arbeiten mit der genannten Apparatur und versuchten ihre Ursache aufzuklären. Um die in Betracht kommenden Faktoren festzustellen, führten wir Modellversuche aus (siehe Abb. 1). Es werden 2 Flaschen ähnlich wie in den Apparaten von Heubner und Mancke montiert. Die Ausströmungsöffnungen

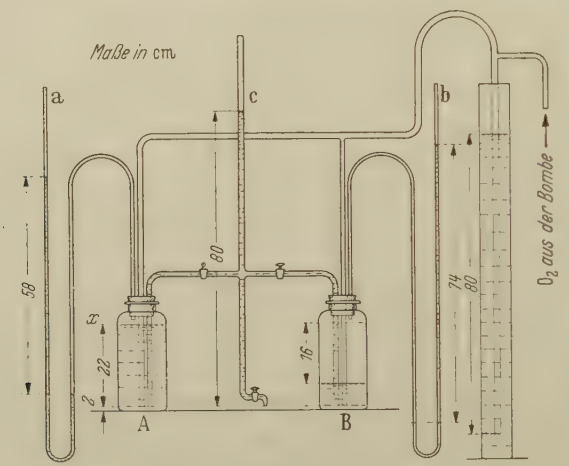


Abb. 1. Erläuterung siehe Text.

des Sauerstoffs in den Flaschen sollen in gleicher Ebene liegen: Zwischen der Bombe und dem Apparat ist die Gottliebsche Ventilanordnung (in unseren Versuchen mit Wasser anstatt mit Quecksilber) eingeschaltet. An beide Flaschen wird ein einfaches Wassermanometer angeschlossen, das den oberhalb des Flüssigkeitsspiegels herrschenden Sauerstoffdruck angibt. Vor dem Herzen (der Einfachheit halber ist hier nur ein gewöhnlicher Glashahn angebracht, aus welchem die Flüssigkeit mit beliebiger Geschwindigkeit abtropft) ist noch ein zweites Manometer eingeschaltet, ähnlich wie in dem Apparat von Heubner und Mancke.

Beim Versuchsbeginn wählen wir einen Sauerstoffdruck von 80 cm H_2O aus. Beide Flaschen sind bis zur Marke x mit Flüssigkeit gefüllt. Wir schalten zunächst die Flasche A ein und lassen langsam aus dem Hahn Flüssigkeit abtropfen. Der im Innern der Flasche über dem Flüssigkeitsspiegel herrschende Sauerstoffdruck beträgt 58 cm Wasser. Beim Umschalten auf die gefüllte B-Flasche verzeichnet das Manometer b ebenfalls einen Sauerstoffdruck von 58 cm Wasser. Diese Flasche bleibt eingeschaltet und wird dann allmählich entleert. Dabei steigt, mit der Entleerung der Flüssigkeit, der Sauerstoffdruck in der Flasche kontinuierlich an, bis er bei entleerter Flasche den maximalen Wert von 80 cm Wasser erreicht. Der auf dem Herzen lastende Druck dagegen (Manometer c)

bleibt während der ganzen Versuchsdauer konstant. Aus dieser einfachen Anordnung geht ohne weiteres hervor, daß der Gasdruck oberhalb des Wasserspiegels bei verschiedener Füllung der einzelnen Flaschen verschiedene Werte aufweist. Da wir zur Durchspülung des Herzens eine Nährlösung anwenden, die neben einem bestimmten Ionengehalt noch eine festgelegte Wasserstoffionenkonzentration, sowie eine bestimmte Sättigung mit Sauerstoff aufweist, so können bei dieser Druckänderung in den physikalisch-chemischen Eigenschaften der Durchspülungsflüssigkeit Änderungen auftreten. In der Tat lassen sich bei Messungen der Wasserstoffionenkonzentration bedeutende Schwankungen feststellen, je nachdem die Vorratsflaschen voll oder mehr oder weniger leer sind. Der Anfangswert der Wasserstoffionenkonzentration einer bestimmten Lösung, in einzelnen Fällen z. B. einer Löckelösung, die mit Sauerstoff gesättigt ist, zeigt bei Zimmertemperatur einen Wert von etwa 7,2. Auf die Temperatur von 37,5° und bei einem Sauerstoffdruck von etwa 60 cm Wasser, zeigt die Wasserstoffionenkonzentration bereits einen Wert von 7,5.

Nach fast vollkommener Entleerung der Flasche steigt (wohl infolge des Ausscheidens von Kohlensäure) das p_H auf Werte über 7,7. (Eine genauere Feststellung dieser letzten Werte war nicht möglich, da die Untersuchungen mit einer Chinhydron-Elektrode vorgenommen wurden.) Aus diesen Änderungen der Wasserstoffionenkonzentration, je nach dem Füllungszustand der einzelnen Flaschen, lassen sich auch die plötzlichen Änderungen im Coronardurchstrom erklären. Dies wird auch dadurch bewiesen, daß beim Umschalten während des Versuches von zwei Flaschen, die einen ungefähr gleichen Flüssigkeitsinhalt aufweisen, die Änderungen im Coronardurchstrom bedeutend kleiner werden, wie bei der Umschaltung von einer vollen zu einer halbleeren oder fast leeren Flasche.

Aus diesen Überlegungen läßt sich der Schluß ziehen, daß die Anordnung von Heubner-Mancke, eine ideale Erhaltung von konstanter Temperatur und konstantem Druck der Ernährungslösung ermöglicht, aber infolge der sich entleerenden Flaschen eine Änderung der Reaktion der Durchströmungslösung nicht verhindern kann, die sich in störender Weise, besonders bei der Umschaltung bemerkbar macht.

Aus diesem Grunde arbeiteten wir eine Änderung des Langendorffschen Apparates aus, welche die angeführten Schwierigkeiten vermeidet. Auch bei unserer Apparatur ist ähnlich wie in der Anordnung von Heubner und Mancke die Möglichkeit vorhanden, außer der Durchströmungslösung 6—7 verschiedene Nährlösungen mit herzwirksamen Substanzen bei genauer Einhaltung von Druck, Temperatur und Reaktion und ohne Zeitverlust dem Herzen anzubieten.

Die Konstruktion und die Anordnung der einzelnen Teile ist aus den schematischen Querschnitten (siehe Abb. 2 und 3) zu ersehen. Die Vorratsflaschen für die Nährlösung stellen zylindrische Kolben dar, welche einen Inhalt von etwa 1000 ccm aufweisen. Oben und unten sind an den Kolben,

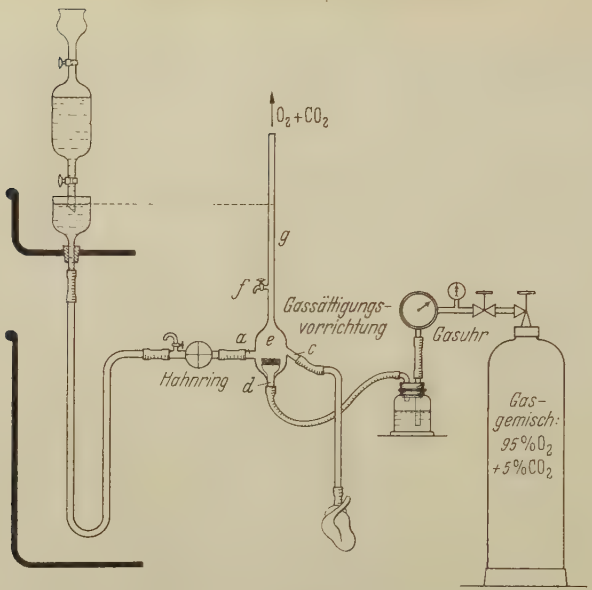


Abb. 2. Erläuterung siehe Text.

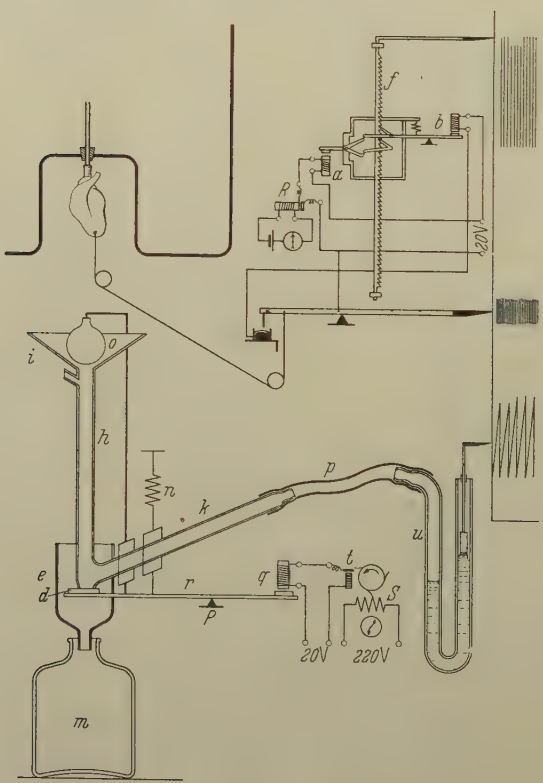


Abb. 3. Erläuterung siehe Text.

die eine genaue Einteilung des Inhaltes aufweisen, 2 Glasröhren angebracht, die einen lichten Durchmesser von etwa 10 mm aufweisen. In diesen Röhren sind Hähne vorhanden; ganz oben ist noch ein Glockentrichter angeschmolzen. Die einzelnen Vorratsflaschen lassen sich leicht mit Klemmen am großen Gestell befestigen. Die erste Flasche, die ausschließlich Durchspülungsflüssigkeit enthält, ist etwas größer dimensioniert und weist einen Inhalt von etwa 3 Liter auf. Wir haben diese Flasche aus rein praktischen Gründen etwas größer gewählt, weil damit während der ganzen Versuchsdauer eine Nachfüllung sich vermeiden läßt.

Auf der oberen Tischplatte liegt ein runder, mit Wasser gefüllter Kupferkessel, der als Thermostat benutzt wird. Das Wasser wird mit elektrischen Tauchsiedern erwärmt und empfindliche Thermoregulatoren gestatten eine tadellose Konstanthaltung der Temperatur auf der gewünschten Höhe. Damit das Wasser überall gleich erwärmt wird, ist im oberen, sowie auch im unteren Kessel eine hohle Kupferspirale angebracht, die zahlreiche kleine Öffnungen aufweist, aus welchen Preßluft entweicht, die das Wasser in ständiger Bewegung hält. Am Boden des oberen Thermostaten sind 7 größere Öffnungen vorhanden, welche mit Gummistopfen verschlossen werden. In diesen Gummistopfen liegen glockenförmige, gläserne Gefäße, welche nach oben offen sind. Das untere Ende des Gefäßes trägt eine Olive zum Anschließen der einzelnen Gefäße an das Zuleitungssystem. Die Gefäße enthalten je 500 ccm Durchspülungslösung.

Das Zuleitungssystem besteht aus dünneren U-förmig gebogenen Röhren, welche zum Verteilungssystem führen. Die bis jetzt gebrauchten Hahnvorrichtungen weisen bekanntlich ihre Vor- und Nachteile auf. Der Karussellhahn bietet nach Heubner und Mancke die größte Gleichmäßigkeit des Zustromweges, bedingt aber beim Umschalten jedesmal die Ausschaltung des auf den Coronargefäßen liegenden Druckes. Weiter ist man, wenn man die Zeit der Ausschaltung auf ein Minimum reduzieren will, zur Innehaltung einer fixierten Reihenfolge gebunden, da man nicht leicht verschiedene Flaschenmündungen überspringen kann. Zu den schon bekannten Nachteilen des zweiten Systems, des Hahnringes, ist noch hinzuzufügen, daß je nachdem die eine oder die andere Flasche angeschlossen ist, die Verteilung der Lösung und die Stromrichtung im Ring selbst ganz verschieden sein können, so daß es ohne weiteres denkbar ist, daß je nach der Reihenfolge der Schaltungen hie und da Reste von Giftlösungen in Schenkelteilen sich ansammeln und verbleiben können, die dann bei weiteren Umschaltungen mit fortgeschleppt werden.

Aus diesen Überlegungen schlagen wir eine Modifikation des Hahnringes vor. Der Bau des vollkommen aus Glas bestehenden offenen Ringes ist aus den Abb. 3 und 4 ohne weiteres zu ersehen. Der Ringkörper ist rund-hakenförmig gebaut, das Ende *a* führt zur Verbindung mit der Sättigungsvorrichtung und weiter zur Herzkanüle. An der äußeren Peripherie des eng-hakenförmig gebogenen Zentralrohres sind in symmetri-

schen Abständen 4 kurze Röhren angesetzt, welche Patenthähne tragen (siehe Abb. 4). Die Enden der doppelschenkeligen Teile der einzelnen Patenthähne werden durch kurze Gummischlauchstücke mit den U-förmig gebogenen Zuleitungen aus der oberen Flasche verbunden. Das Ende 1 des Ringes steht mit der größeren Flasche in Verbindung, welche ausschließlich Nährlösung enthält. Dies ist besonders wichtig, weil somit nach jeder Verabreichung von Giftlösungen das ganze Verteilsystem durch die giftfreie Nährlösung gründlich ausgespült werden kann. Ein Zurückbleiben von Giftlösung im gebogenen Teil des offenen Ringes bleibt somit ausgeschlossen. Aus den Abb. 2 und 4 ist noch zu ersehen, wie vor

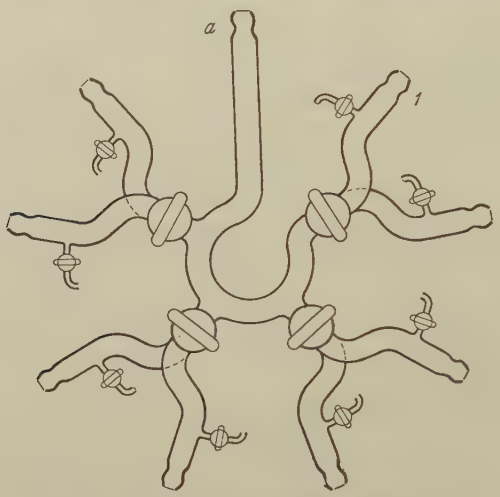


Abb. 4. Der Hahnring (Verteilungssystem).

dem großen Zweiweghahn in jedem zuleitenden Schenkel eine Rohrabzweigung sich befindet, welche ebenfalls einen kleinen Hahn trägt. Diese kleinen Vorhähne bieten die Möglichkeit, die ganze vorgeschaltete Leitung zu spülen, so daß bei der Umschaltung durch die Haupthähne des Ringes die gewünschte Lösung sofort ins System einströmen kann.

Die Nährlösung wird bei der Herstellung mit einem Gasgemisch gesättigt. Da die Erhaltung einer ganz gleichmäßigen Gassättigung in den verschiedenen Flaschen ziemlich schwierig ist, leiten wir nochmals vor dem Herzen das Gasgemisch durch die Flüssigkeit — in dieser Weise wird für alle eintretenden Lösungen eine gleichmäßige Sättigung und damit auch eine gleiche Wasserstoffionenkonzentration erzielt.

Der ableitende Weg des Hahnringes steht mit der Sättigungsvorrichtung in Verbindung (Abb. 2). Dieses Zwischenstück besteht ausschließlich aus Glas. Die verschiedenen Nährlösungen gelangen durch das Rohr *a* in die Sättigungskammer *e*. Den ableitenden Weg zum Herzen stellt das kurze Rohr *c* dar. Am Boden der kleinen Kammer ist ein gewöhnliches

Schottsches Filter eingeschmolzen. Das Gasgemisch der Bombe kommt durch *d* zum Filter und gelangt in Form von fein verteilten Blasen in die Kammer *e*. Die feine Verteilung des Gases gestattet eine leichte und vollkommene Sättigung der Flüssigkeit mit dem Gasgemisch. Oben ist die Kammer offen: Die Gasblasen steigen in dem Rohr *g* empor und gelangen bis zum oberen Flüssigkeitsspiegel, wo sie leicht entweichen können. Der Flüssigkeitsspiegel in *g* gibt uns direkt den auf dem Herzen lastenden Druck der Durchspülungslösung an. Am Rohr *g* ist noch ein kleiner, seitlicher Hahn *f* angebracht, aus welchem während der ganzen Versuchsdauer Nährlösung in Form von Tropfen abgelassen werden kann. Durch das kontinuierliche Abtropfen von etwas Flüssigkeit aus der Kammer bezweckt man eine raschere und präzisere Einstellung und Erhaltung der gewünschten Konzentration der Giftlösung beim Umschalten von einer Flasche auf die andere. Dieser Zusatzhahn hat sich aber bei den verschiedenen Versuchen nicht als unbedingt notwendig erwiesen.

Zahlreiche Versuche haben gezeigt, wie wichtig es ist, eine Nährlösung anzuwenden, welche den optimalen und konstanten Bedingungen so weit wie möglich entspricht. Nur auf diese Weise lassen sich unangenehme und sonst schwer zu deutende Störungen in der Herztätigkeit am besten vermeiden. Wir haben für unsere Versuche eine Lösung angewandt, die folgende Zusammenstellung aufweist:

Aqua destillata	1000	g
NaCl	8,6	„
KCl	0,3	„
$CaCl_2$	0,24	„
$NaHCO_3$	0,7	„
Glucose	1,0	„

Die Gasdurchleitung geschieht nicht mit reinem Sauerstoff, sondern mit einem Gasgemisch, das neben Sauerstoff noch einen bestimmten Gehalt an Kohlensäure aufweist.

Schon Michaelis hat auf die Möglichkeit hingewiesen, in dieser Weise eine Lösung herzustellen, die bei der Gasdurchleitung keine Änderung der Reaktion erfährt. Die Konzentration der Wasserstoffionen wird durch die Konzentration des Bicarbonats und der freien Kohlensäure festgelegt. Unsere Lösung wird nach den Angaben von Warburg so hergestellt, daß sich die Konzentration der freien Kohlensäure und des Bicarbonats während des Versuches nicht merklich ändern, so daß auch die Konzentration der Wasserstoffionen während des Versuches praktisch konstant bleibt. Zur Vorbereitung von 10 Liter Durchspülungsflüssigkeit werden zunächst 86 g NaCl, 3,0 g KCl, 2,4 g $CaCl_2$ und 10 g Glucose in 10000 ccm destilliertem Wasser gelöst. Das gewöhnliche destillierte Wasser enthält soviel Metall und organische Beimengungen, daß es für die Versuche unbrauchbar ist. Wir verwenden daher nur frisch aus Pyrexglas destilliertes Wasser. Die Bicarbonatlösung wird getrennt vorbereitet, da sie sonst, der NaCl-KCl-

$CaCl_2$-Lösung zugesetzt, einen Niederschlag von Calciumcarbonat erzeugt, der sich nur langsam beim Durchleiten von kohlensäurehaltigem Gasgemisch wieder auflöst. Die Bicarbonatlösung wird so vorbereitet, daß 7 g $NaHCO_3$ pro Analyse in 500 ccm destilliertem Wasser gelöst und etwa 10 Minuten lang mit 100%iger Kohlensäure durchperlt werden.

Aus der 10 Liter-Lösung mit den Chloriden und Glucose werden 500 ccm entnommen und durch obige mit Kohlensäure vorbehandelte Bicarbonatlösung ersetzt. Nunmehr wird die ganze Lösung, die zur Durchspülung des Herzens dient, mit einem Gasgemisch behandelt, das neben Sauerstoff noch 5 Vol.% Kohlensäure enthält. Um eine rasche und vollkommene Sättigung zu erzielen, lassen wir das Gasgemisch durch eine Schottsche Filterplatte durchströmen, so daß es in feinster Verteilung durch die Flüssigkeit durchperlt. Nach kurzer Zeit ist die Sättigung erreicht. Die so vorbereitete Nährlösung wird auf etwa 39° erwärmt und kommt in die verschiedenen Vorratsflaschen des Durchströmungsapparates. Die vorliegende Durchspülungsflüssigkeit, die wohl auch als Nährlösung bezeichnet werden kann, entspricht somit in weitgehendem Maße den oben aufgestellten Anforderungen zur Erhaltung einer Isotonie, einer Isohydrie und einer Isoionie während der ganzen Versuchsdauer. Um diese Bedingungen im Rahmen der Möglichkeit noch weiter zu erfüllen, ist in unserer Apparatur zwischen dem Verteilsystem und der Herzkanüle noch die oben besprochene Sättigungsvorrichtung angebracht, welche eine nachträgliche Durchperlung der zum Herzen fließenden Lösung mit dem gleichen Gasgemisch gestattet.

In der Literatur sind verschiedene Apparate beschrieben, die zur Aufzeichnung der Herztätigkeit auf der Kymographionkurve dienen. Jungmann und Wiemer haben eine Methode angegeben, die die Aufzeichnung der Hubhöhe, der Frequenz, der Herzarbeit und des Coronardurchflusses als Summationswerte gestattet. Die zur Registrierung solcher Summenkurven notwendige Apparatur ist ziemlich kompliziert und kostspielig. Im folgenden beschreiben wir zwei sehr einfache Vorrichtungen, die eine saubere und präzise Aufzeichnung der Schlagfolge des Herzens und des Coronardurchflusses gestatten.

Zur Registrierung der Herzfrequenz wenden wir eine Apparatur an, die die Schlagfolge als Summationskurve aufzeichnet. E. Rothlin hat eine Vorrichtung angegeben, die er für Registrierungen von Flüssigkeitsmengen bei Durchströmungsversuchen anwendet. Durch geringfügige Modifikationen lassen sich Teile dieser Apparatur zur Aufzeichung der Schlagfolge des Herzens als Summationskurve ohne weiteres anwenden. Das Prinzip der Methode ist aus dem Schema in Abb. 3 ohne weiteres abzulesen.

Am Schreibhebel, welcher zur Registrierung der Bewegung der Herzspitze dient, ist ein kurzer, rechtwinklig gebogener Silberdraht befestigt. Unter der Spitze des Silberdrahtes ist ein isolierter, mit Quecksilber gefüllter Becher vorhanden, der so hoch gestellt wird, daß der Silberdraht

während der Systole kurz eintaucht. In einem ersten Stromkreis sind der Elektromagnet *b* und die Kontaktstelle Quecksilberbecher-Silberdraht hintereinander geschaltet. Der eine Pol der Stromquelle (12 Volt Gleichstrom) liegt am Hebel, der andere Pol führt über die Spule *b* zum Quecksilber. Während jeder Systole wird der Stromkreis für einen kurzen Moment geschlossen. Dadurch wird der Elektromagnet *b* betätigt, welcher die senkrecht stehende Zahnstange *f* um eine Zahnlänge hebt. Die Zahnstange, die oben eine feine Schreibfeder trägt, bleibt auf jeder Höhe arretiert und zeichnet auf dem berußten Papier des Kymographions den zurückgelegten Weg. Die Verzahnung ist so ausgeführt, daß bei jedem Stromstoß, bzw. bei jeder Kontraktion des Herzens die Zahnstange um $1^1/_2$ mm gehoben wird. An derselben Stromquelle ist ein zweiter Stromkreis angeschlossen, in welchem der Elektromagnet *a* und das Relais *R* hintereinander geschaltet sind. Das Relais *R* wird mit einer Jaquetschen Kontaktuhr betätigt. Den Strom zur Betätigung des Relais liefert ein kleiner 2 Volt-Akkumulator. In Abständen von je 10 Sekunden schließt die Kontaktuhr den Stromkreis für das Relais; dadurch wird der Elektromagnet *a* betätigt und die Arretierung der Zahnstange gelöst, die rasch durch das eigene Gewicht auf die 0-Linie fällt.

Der Apparat registriert somit automatisch die Zahl der Herzkontraktionen in der Zeiteinheit (bei unseren Versuchen 10 Sekunden). Da die Zahnstange von jeder Kontraktion des Herzens um 1,5 mm gehoben wird, so ist einfach auf der Kurve durch Division der in mm ausgedrückten Ordinatenhöhe durch 1,5 die Zahl der Pulsschläge in der Zeiteinheit zu lesen.

Zur Messung und Registrierung des Coronardurchstromes dient eine einfache Apparatur, welche auf ähnlichem Prinzip wie der „outflow-recorder" von Gaddum arbeitet und deren Bau und Funktionieren aus der Abb. zu ersehen ist. Auf einem kleinen Hartgummibrett ist rechts ein kräftiger Elektromagnet montiert, dessen Anker zwei Hebelarme aufweist, die verschiedene Längen zeigen. Der Drehpunkt des Ankers befindet sich in *P*. Am langen Schenkel des Hebels ist links eine kräftige Feder *n* vorhanden, sowie eine Führung für den Gummiballon *o*. Das Ende des Armes trägt eine runde dünne Messingplatte, welche einen dicken mittelweichen Gummiüberzug *d* aufweist. Die Gummiplatte wird durch die Feder *n* kräftig angezogen und gestattet eine sichere Abdichtung der unteren Öffnung des U-förmig gebogenen Glasrohres *h*—*k*. Das Glasrohr ist mit einem Halter fest auf dem Brett montiert. Der senkrecht stehende Schenkel des U-förmig gebogenen Glasrohres ist oben trichterförmig ausgezogen und trägt unterhalb des Trichters noch eine kurze, nach oben gerichtete seitliche Abzweigung. Der schräg verlaufende Teil steht durch einen dickwandigen Gummischlauch *p* mit einem Krayerschen Wassermanometer in Verbindung. Der Mantel *e* stellt eine trichterförmige Schutzvorrichtung dar. Am ausgezogenen Ende ist ein Gummischlauch angebracht, der in die große Sammelflasche *m* führt. Zur Betätigung des Elektromagnets

dient dieselbe Stromquelle von 12 Volt. Die Stromstöße für den Elektromagneten q werden von einem verzögerten Relais s geliefert. Das Relais wird von einem Synchronmotor mit Übersetzungsgetriebe gesteuert, der so ausgeführt ist, daß durch einfache Umschaltungen die Betätigung der Kontakte je nach Bedarf mit Zeitintervallen von 10, 20, 30 oder 60 Sekunden erfolgen kann. Die Verzögerungszeiten sind leicht verstellbar. Für unsere Versuche genügt eine Verzögerung von etwa 0,4 Sekunden vollkommen, da in diesem Zeitintervall die Lösung, die im U-Rohr enthalten ist, sich leicht und ganz entleeren kann.

Die Funktionsweise der ganzen Apparatur ist denkbar einfach. Die Durchströmungsflüssigkeit, welche durch die Kranzgefäße hindurchströmt und sich nach außen ergießt, sammelt sich in dem oberen Trichter und füllt allmählich beide Schenkel des U-Rohres aus. Die sich im schrägen Teil des U-Rohres ansammelnde Flüssigkeit bedingt eine Verschiebung der Luftsäule im Gummischlauch p und des Wassers im Manometer u. Durch Hinzutropfen von Durchströmungslösung wird somit der Schwimmer im Krayerschen Manometer gehoben und die Flüssigkeitsmenge durch die Schreibfeder am berußten Papier des Kymographions registriert. Nach einem bestimmten Zeitintervall, in unseren Versuchen nach 20 oder 30 Sekunden, geht durch die Spule des Elektromagnets q ein kräftiger Stromstoß durch. Der Anker wird somit betätigt und die Gummiplatte, die die Öffnung des U-Rohres verschließt, nach unten gezogen. In demselben Augenblick schließt der oben angebrachte Gummiballon den Trichter vollkommen zu. Während dieses kurzen Intervalls (etwa $^4/_{10}$ Sekunden) entleert sich die Flüssigkeit aus dem U-Rohr und das Manometer kehrt in die Grundlage zurück. Der Gummiballon, der die Trichteröffnung verschließt, verhindert, in der Zeit, wo die Ausflußöffnung des U-Rohres offenbleibt, daß Flüssigkeit in das Meßsystem hereinfließt.

Wir haben mit dieser Anordnung die Wirkung einer Reihe von Medikamenten an dem isolierten Säugetierherzen geprüft. Die Ergebnisse werden wir in einer demnächst folgenden Publikation mitteilen. Bei genauer Einhaltung der oben besprochenen Bedingungen läßt sich in der größten Mehrzahl der Fälle jede störende Wirkung beim Umschalten von Flasche zu Flasche vermeiden. Im folgenden bringen wir zwei einfache Beispiele:

Abb. 5 zeigt den Kurvenverlauf eines überlebenden Kaninchenherzens, welches mit der oben besprochenen Lösung ohne jeglichen Medikamentzusatz ernährt wird. Die erste Summationskurve oben gibt die Frequenz der Herzschläge in der Zeiteinheit an. Die Zeiteinheit wurde in unseren Versuchen gleich 10 Sekunden ausgewählt. Die mittlere Kurve zeigt die Amplitude der Herzkontraktionen. Die dritte Kurve ist, ähnlich wie die erste, ebenfalls eine Summationskurve, welche den Coronardurchfluß in der Zeiteinheit (20 Sekunden) direkt angibt. An den verschiedenen Stellen, an welchen ein Pfeil angebracht ist, wurde eine Umschaltung vorgenommen. Es ist aus der Kurve ohne weiteres zu sehen, daß sowohl die Frequenz

wie die Amplitude und der Coronardurchfluß bei den Umschaltungen keine Änderung erfahren. Die plötzlichen Schwankungen, besonders der Frequenz und des Coronardurchstromes, die mit den früheren Apparaturen oft störend sich bemerkbar machten, fallen bei unserer Anordnung ganz weg.

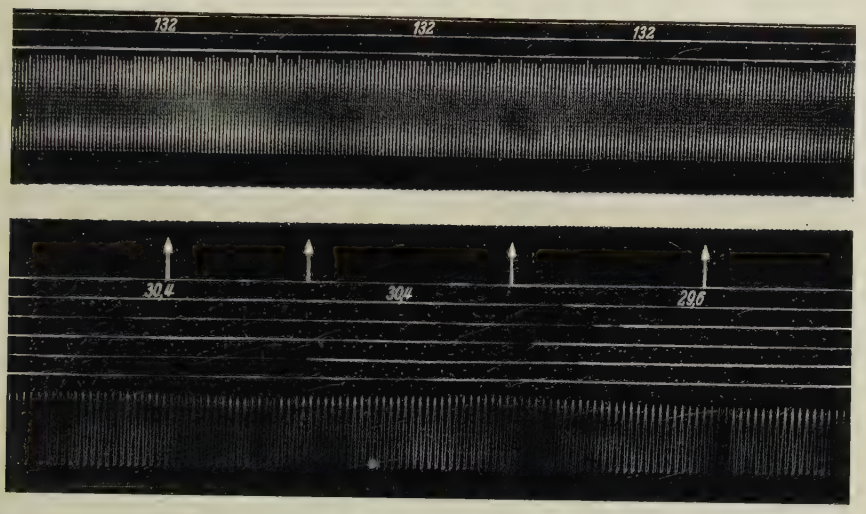


Abb. 5. Kurvenverlauf ohne jeglichen Medikamentzusatz.
Oben: Frequenz (Zeiteinheit = 10 Sek.). Mitte: Amplitude der Herzkontraktionen. Unten: Coronardurchfluß (Zeiteinheit = 20 Sek.). An jeder Stelle, an welcher ein Pfeil angebracht ist, wurde eine Umschaltung vorgenommen.

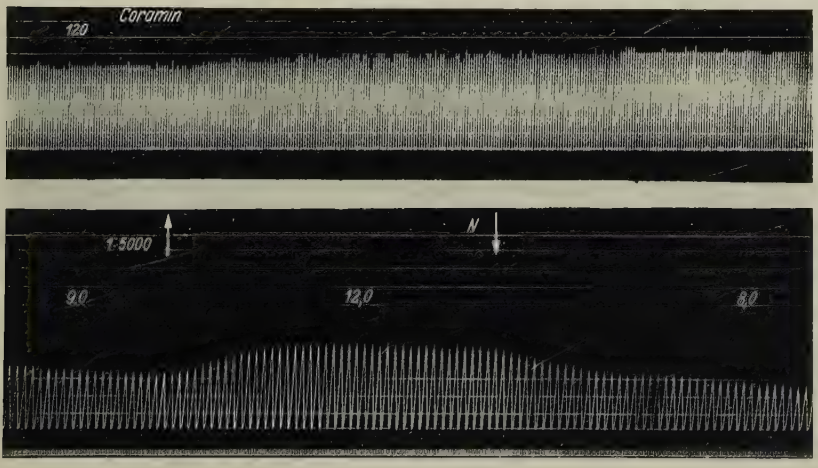


Abb. 6. Die Wirkung des Coramins.
Deutliche Zunahme des Coronardurchflusses bei Zugabe von Coramin zu der Nährlösung. (Coraminkonzentration: 1:5000.) Bei N ▼ wieder normale Lösung.

Die zweite Kurve (Abb. 6) zeigt die Wirkung des Coramins auf das isolierte, freischlagende Kaninchenherz. Eine direkte Herzwirkung des

Coramins wurde zunächst von Uhlmann beschrieben. Nach Massart bleibt Coramin in schwacher Konzentration auf das Herz wirkungslos. Erst mit hohen Konzentrationen konnte er eine deutliche Abschwächung der Kontraktionen erreichen. Nach früheren Versuchen (Trendelenburg, Gremels) soll Coramin am Herz-Lungenpräparat nach Starling keinen fördernden Einfluß auf die Herztätigkeit zeigen. Mezey beschreibt dagegen am suffizienten Herzen eine Vergrößerung der Amplitude und eine geringgradige Abnahme der Frequenz bei Verabreichung von Coramin in einer Konzentration zwischen 1 : 4000 und 1 : 3000.

Unsere Versuche deuten ebenfalls auf eine direkte Wirkung des Coramins hin, die sich besonders in einer Zunahme des Coronardurchstromes zeigt. Frequenz und Amplitude bleiben dagegen unbeeinflußt. Die Coraminwirkung auf den Coronardurchstrom zeigt sich am deutlichsten in einer Konzentration von 1 : 5000 bis 1 : 4000. Größere Coraminmengen (1 : 2000—1 : 1000) rufen eine Verminderung der Herzfrequenz und eine Abnahme der Hubhöhe mit sehr starkem Anstieg des Coronardurchstromes hervor. Alle diese Wirkungen sind reversibel.

Zusammenfassung.

Die Hauptschwierigkeit bei den Anordnungen nach Langendorff besteht darin, daß bei der Zuführung mehrerer Versuchslösungen durch Umschaltung auf verschiedene Durchströmungsflaschen unerwartete Einflüsse auf die Herztätigkeit und den Coronardurchfluß vorkommen. Es stellt sich bei eingehenden Untersuchungen heraus, daß solche nur dann vermieden werden können, wenn nicht nur der Ausströmungsdruck, sondern auch das vom Gasdruck abhängige p_H konstant gehalten wird. Diese Bedingung ist bei den vorhandenen Systemen nur schwer zu realisieren. Es wurde auf Grund verschiedenartiger Versuche eine neue Anordnung entwickelt, welche die Konstanz des Ausströmungsdruckes und der Gassättigung und somit auch der Wasserstoffionenkonzentration für eine Reihe verschiedener Durchströmungsflaschen garantiert. Es können bei dieser Methode alle Durchströmungsflaschen bei beliebigem Wechsel und ohne Veränderung der Herztätigkeit verwendet werden. Weiterhin wurden Geräte für die Registrierung der Frequenzsumme und des Coronardurchflusses ausgearbeitet, die eine Feststellung dieser Faktoren in einfacher und sicherer Weise gestatten.

Es läßt sich mit Hilfe dieser Versuchsanordnung die coronargefäßerweiternde Wirkung des Coramins einwandfrei zeigen.

Literatur.

Brodie u. Cullis: J. Physiol. (Brit.) **37**, 337 (1908). — Gaddum: Ebenda **67**, 16 (1929). — Gottlieb: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **51**, 30 (1904). — Gremels: Ebenda **153**, 36 (1930). — Gunn: J. Physiol. (Brit.) **46**, 506 (1913). — Heubner u. Mancke: Abderhaldens Handb., Abt. V, Teil 8, S. 885. — Hilton u. Eich-

holtz: J. Physiol. (Brit.) **59**, 413 (1925). — Jörgensen: Die Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration. Dresden und Leipzig 1935, Steinkop. — Junkmann: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **120**, 314 (1927). — Langendorff: Pflügers Arch. **61**, 219 (1895). — Loeb: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **51**, 64 (1904). — Magnus u. Lowton: Ebenda **63**, 255 (1910). — Massart: Arch. internat. Pharmacodynamie **73**, 34 (1930). — Mezey: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **177**, 235 (1935). — Michaelis u. Garmendia: Biochem. Z. **67**, 431 (1914). — Michaelis: Die Wasserstoffionenkonzentration. Berlin, Springer, 1914. — Orzechowski: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **172**, 471 (1933). — Rigler: Ebenda **163**, 295 (1932). — Rothlin: Pflügers Arch. **185**, 111 (1920). — Rothlin: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **176**, 635 (1934). — Rössler: J. Physiol. (Brit.) **65**, 23 (1928). — Rona u. Wilenko: Biochem. Z. **59**, 172 (1914). — Schaumann: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **160**, 127 (1931). — Staub u. Gassmann: Ebenda **154**, 317 (1930). — Trendelenburg: Med. Klin. **41**, 379 (1929). — Uhlmann: Z. exper. Med. **43**, 556 (1924). — Warburg: Über den Stoffwechsel der Tumoren, Springer 1925. — Wiemer: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **143**, 1 (1929). — Wintersteiner: Z. allg. Physiol. **4**, 333 (1904). — Wohlgemuth: Zbl. Physiol. **21**, 828 (1907).

Aus dem Pharmakologischen Institut (Direktor: Prof. S. Janssen) und der Frauenklinik (Direktor: Prof. F. Siegert) der Universität Freiburg i. Br.

Der Uterus und seine innersekretorische Bedeutung für den normalen Ablauf der Ovarialfunktionen.

Von

Paul Grumbrecht und **Arnold Loeser**

Frauenklinik Pharmakologisches Institut

(unter Mitarbeit von **Kurt Erbacher**)

Pharmakologisches Institut.

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 19. Februar 1939.)

Einleitung.

Das menschliche Ei soll nach der zur Zeit fast allgemein vertretenen Auffassung nach dem Follikelsprung von der Tube angesaugt und durch die Tube in den Uterus befördert werden. Über das Schicksal der dabei gleichzeitig „fontänenartig herausgepreßten“[1] Follikelflüssigkeit wird meist nichts Bestimmtes ausgesagt. Man nimmt dabei ohne weiteres an, daß sie in die freie Bauchhöhle abfließt und dort resorbiert wird. Wieweit diese Anschauung das Richtige trifft, soll hier zunächst nicht weiter erörtert werden.

Bei manchen Tieren liegen die Verhältnisse anders. So ist der Weg Ovarium—Tube—Uterus bei Mäusen und Ratten durch Ausbildung einer Ovarialkapsel gegen die freie Bauchhöhle vollkommen abgeschlossen. Infolge dieser besonderen anatomischen Anordnung gelangen hier Ei und hormonhaltige Follikelflüssigkeit aus dem Ovarium durch die Ovarialtasche und die Tube in den Uterus. Unter Umgehung des Blutweges wirkt das Follikelhormon im Uterus unmittelbar auf die Bauelemente des Organs ein und regt die Wachstumsvorgänge an[2]. Daß eine örtliche Beeinflussung des Uterus durch Follikelhormon tatsächlich möglich ist, geht einmal aus Versuchen hervor, in denen wir Follikelhormon direkt in den Uterus injiziert haben. Im Gegensatz zu der üblichen parenteralen Anwendung treten dabei Hyperplasie der Muskulatur und Proliferation der Schleimhaut schon bei Dosen ein, die, parenteral zugeführt, noch völlig unwirksam sind.

---

[1] Braus, H.: Anatomie des Menschen, S. 495. Berlin, Julius Springer, 1924. — [2] Grumbrecht u. Loeser: Arch. Gynäk. **167**, 373 (1938); Klin. Wschr. **1938**, S. 1086; Naunyn-Schmiedebergs Arch. **189**, 345 (1938); Arch. Gynäk. **167**, 199 (1938); Loeser: Vortrag Pharmakologentagung 1938, Berlin; 16. Intern. Physiologenkongreß, Zürich 1938.

Dies gilt für Klinik und Experiment. Weiterhin konnten wir nachweisen, daß die gleichen histologischen Veränderungen selbst dann auftreten, wenn man überlebendes Uterusgewebe in vitro mit oestrogenen Substanzen zusammenbringt[3]. Diese Ergebnisse widerlegen die bisher vertretene Meinung, daß Follikelhormon nur auf dem Blutwege seine typischen Wirkungen am Erfolgsorgan hervorruft.

Die konsequente Verfolgung der angeführten Beobachtungen führte uns weiter zur Auffindung einer bis dahin unbekannten Wirkung des Follikelhormons. Es ließ sich nämlich zeigen[4], daß bei Unterbrechung des Weges Ovarium—Ovarialkapsel—Tube—Uterus außerhalb der Sphäre der weiblichen Geschlechtsorgane vorübergehend Veränderungen auftreten, die sich sonst nur nach Entfernung der Ovarien oder nach Erlöschen der Keimdrüsentätigkeit einstellen. Diese Veränderungen betreffen in erster Linie die Schilddrüse. Entfernt man nämlich bei Ratten die Ovarialkapseln oder unterbindet die Tuben oder exstirpiert den Uterus, dann zeigt die Schilddrüse schon 14 Tage nach der Operation bei allen Tieren das gleiche Bild: Die Follikel sind vergrößert, das Follikelepithel ist abgeflacht, das Follikellumen ist vollständig mit eosinophilem Kolloid ausgefüllt (Kastratendrüse). Mit anderen Worten: Wird der normale Abfluß der hormonhaltigen Follikelflüssigkeit durch Ovarialtasche und Tube in den Uterus verhindert, dann reagiert die Schilddrüse trotz Anwesenheit der Ovarien und trotz Gegenwart von Ovarialhormon so, als ob die Ovarialhormone vollständig fehlten, d. h. so wie beim kastrierten Tier. Die nächste Frage war die, lassen sich die beobachteten Veränderungen in der Schilddrüse nach Herstellung des ursprünglichen Zustandes wieder rückgängig machen? Dies ist, das sei hier schon vorweggenommen, tatsächlich möglich[5]. Aus technischen Gründen haben wir das Abflußhindernis nicht beseitigt, sondern haben Tieren, deren Tuben unterbunden oder bei denen die Ovarialkapseln entfernt worden waren, Follikelhormon in den Uterus injiziert. Das Ergebnis dieser Versuche war insofern überraschend, als sich bei der Sektion der Tiere wieder ein normales Schilddrüsenbild fand. Das gleiche Verhalten zeigten kastrierte Tiere. Auch bei ihnen wurden die Kastrationsveränderungen in der Schilddrüse durch das intrauterin zugeführte Follikelhormon wieder ausgeglichen. Weiterhin fanden wir, daß die Schilddrüse normaler Tiere bei gleicher Behandlung im Sinne der tätigen Drüse verändert wird. Da die beschriebene Wirkung von Follikelhormon auf die Schilddrüse bei parenteraler Injektion nicht eintritt[6], haben wir gefolgert, daß das Follikelhormon durch Passage des Uterus schilddrüsenwirksame Eigenschaften erlangt. Die Frage, ob dabei das Follikelhormon selbst im Uterus in eine Substanz mit thyreotroper Wirkung

---

[3] Grumbrecht u. Loeser: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **190**, 356 (1938). — [4] Grumbrecht u. Loeser: Ebenda **189**, 374 (1938). — [5] Grumbrecht u. Loeser: Ebenda **189**, 377 (1938). — [6] Grumbrecht u. Loeser: Ebenda **189**, 348 (1938); daselbst weitere Literatur.

umgewandelt wird oder ob das Follikelhormon im Uterus vielleicht die Bildung von Stoffen anregt, die ihrerseits schilddrüsenwirksam sind, kann dabei vorläufig nicht beantwortet werden.

Aus allen Versuchen geht hervor, daß der Uterus nicht nur Angriffspunkt für Follikelhormon ist, sondern daß das Follikelhormon vom Uterus aus auf bisher noch ungeklärte Weise auch die Schilddrüse beeinflußt. Über die Bedeutung dieses Vorganges für den normalen Ablauf der Ovarialfunktionen soll im Folgenden berichtet werden.

Die Untersuchungen umfassen:

I. den Einfluß von Schilddrüsenstoffen auf die Struktur und die Funktion des normalen Ovariums,

II. die Ursache der Entstehung der strukturellen Veränderungen im Ovarium nach Einwirkung von Schilddrüsenstoffen,

III. die Folgen der Entfernung des Uterus für die Beziehungen zwischen Ovarium, Hypophyse und Schilddrüse,

IV. die Bedeutung des Uterus für den normalen Ablauf der Ovarialfunktionen, und

V. die endokrine Bedeutung des Uterus beim Menschen.

Methodik.

Versuchstiere waren infantile und geschlechtsreife weibliche Ratten, deren Futter aus Fleisch-Milch-Brot und Gemüse bestand. Nach Ablauf der Versuchszeit wurden die Tiere getötet und die Geschlechtsorgane sowie die innersekretorischen Drüsen histologisch untersucht. Außerdem bestimmten wir täglich das Körpergewicht. Bei einem Teil der Ratten wurde täglich der Scheidenabstrich untersucht. Als Brunst bezeichnen wir nur das reine Schollenstadium.

Die Bestimmung des Sauerstoffverbrauchs wurde mit der von Loeser, Ruland und Trikojus[7] beschriebenen Apparatur an nüchternen Tieren bei einer konstanten Temperatur von 28° ausgeführt. Der eigentlichen Versuchszeit ging in der üblichen Weise eine Vorperiode von 8—14 Tagen voraus, in der wir die normalen Sauerstoffverbrauchswerte (ccm O_2/g und Stunde) ermittelten.

Den Gehalt der Hypophyse an gonadotropem und thyreotropem Hormon bestimmten wir nach den Angaben von Keller, Grumbrecht und Loeser[8]. Zu diesem Zwecke wurden die Hypophysen von ganzen Tiergruppen vereinigt, gewogen, in Aceton getrocknet und das erhaltene Trockenpulver an Meerschweinchen (thyreotropes Hormon) bzw. an infantilen Mäusen (gonadotropes Hormon) ausgewertet.

Als Schilddrüsenpräparat benutzten wir Thyroxin (Schering) oder getrocknetes Schilddrüsenkolloid, das nach der Methode von Tatum[9] aus Schilddrüsen von Schafen gewonnen worden war.

Die Versuche wurden in den Jahren 1937—1939 ausgeführt.

---

[7] Loeser, Ruland u. Trikojus: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **189**, 669 (1938). — [8] Keller, Grumbrecht u. Loeser: Klin. Wschr. **1938**, S. 801. — [9] Tatum: J. biol. Chem. (Am.) **42**, 47 (1920).

I. Der Einfluß von Schilddrüsenstoffen auf die Struktur und die Funktion des normalen Ovariums.

Zur Entscheidung der Frage, ob den durch Follikelhormon hervorgerufenen Veränderungen in der Schilddrüse eine Bedeutung für das Ovarium zukommt, haben wir in der vorliegenden Arbeit zunächst den Einfluß von Schilddrüsenstoffen auf die Struktur und die Funktion des Ovariums untersucht. Obwohl bereits eine Reihe von Beobachtungen[10] über Veränderungen der weiblichen Keimdrüsen nach Einwirkung von Schilddrüsenstoffen vorliegt, sind die Ergebnisse so widersprechend, daß es unmöglich ist, sich eine einheitliche Vorstellung von den Beziehungen zwischen Schilddrüse und Ovarium zu machen. Die Mannigfaltigkeit der Befunde ist in erster Linie auf die unterschiedlichen Versuchsbedingungen — Art des verwendeten Präparates, Dosis, Art der Verabreichung, Versuchsdauer, Tierart, Alter der Tiere, Nahrung u. a. — zurückzuführen. Hinzu kommt die verschiedene Beurteilung der Wirkung, je nachdem, ob entweder Veränderungen des Ovariums, des Uterus oder der Scheide als Maßstab dienten.

Unter Berücksichtigung aller angegebenen Bedingungen haben wir daher in eigenen Versuchen die Wirkung von Schilddrüsenstoffen auf das Ovarium geprüft. Da das Ovarium geschlechtsreifer Tiere infolge der cyclischen Vorgänge und der dadurch bedingten Veränderungen des histologischen Bildes für kurzfristige Versuche ungeeignet ist, wurden alle Untersuchungen an infantilen Tieren vorgenommen. Als Schilddrüsenpräparat verwendeten wir Thyroxin. Die Tagesmenge betrug 5 bzw. 200 γ.

Die Wirkung von Thyroxin auf das Ovarium der infantilen Ratte.

1. Tagesmenge: 5 γ.

25 infantile Ratten, die in vier Gruppen eingeteilt waren, erhielten täglich subcutan 5 γ Thyroxin. Die Versuchszeit war bei der ersten Gruppe 5, bei der zweiten 10, bei der dritten 15 und bei der vierten Gruppe 22 Tage. 24 Stunden nach der letzten Injektion wurden die Tiere getötet, die Ovarien gewogen und histologisch untersucht. Als Kontrollen verwendeten wir 20 gleich schwere Tiere, die auf die verschiedenen Gruppen verteilt waren. Bei allen Ratten wurde täglich der Scheidenabstrich geprüft.

Wie aus Tabelle 1 hervorgeht, zeigt das histologische Bild des Ovariums nach 5tägiger Einwirkung von täglich 5 γ Thyroxin im Vergleich zu dem

[10] Literatur siehe Laquer: Hormone und innere Sekretion, S. 110. Dresden u. Leipzig, Th. Steinkopff, 1934; Handb. d. Gynäkologie, 3.Aufl., Bd. IX, S. 773, 785; Bethe-Bergmann: Handb. d. norm. u. pathol. Physiol., Bd. 16/1, S. 668. Berlin, Julius Springer, 1930; van Horn: Endocrinology (Am.) **17**, 152 (1933); Reiss u. Perény: Endokrinologie **2**, 181 (1928); Abelin u. Wiedmer: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **166**, 584 (1932); Kuschinsky: Ebenda **162**, 192 (1931); Trendelenburg: Die Hormone, Bd. II, S. 210. Berlin, Julius Springer, 1934.

Tabelle 1. Die Wirkung von Thyroxin auf das Ovarium der infantilen Ratte. Tagesdosis: 5 γ.

Tier Nr.	Tiergewicht in g zu Beginn des Versuchs	Tiergewicht in g am Ende des Versuchs	Thyroxin in γ Tagesmenge	Thyroxin in γ Gesamtmenge	Behandlungszeit in Tagen	Ovarium Gewicht in mg	Ovarium Histologischer Befund
1940	45	48	5	25	5	14	Follikelreifung
1941	45	49	5	25	5	13	
1942	37	41	5	25	5	15	
1943	38	52	5	25	5	13	Infantiles Organ
1944	39	50	5	25	5	13	Follikelreifung
				Mittelwert:		13,6	
				Kontrolltiere			
1905	29	45				15	Follikelreifung
1906	36	51				18	
1907	34	52				18	
1908	35	51				15	
1909	44	62				17	
				Mittelwert:		16,6	
1950	40	75	5	50	10	16	Starke Follikelreifung.
1951	35	41	5	50	10	14	Beginnende Luteinisierung
1952	40	70	5	50	10	22	Sehr starke Follikelreifung
1953	42	70	5	50	10	21	Sehr starke Follikelreifung, mehrere Corpora lutea
1954	41	72	5	50	10	18	Zahlreiche Corpora lutea
				Mittelwert:		18,2	
				Kontrolltiere			
1915	29	54				21	Follikel aller Reifungsgrade
1916	35	70				24	
1917	32	54				26	
1918	42	70				13	
1919	38	62				18	
				Mittelwert:		20,4	
1960	38	73	5	75	15	25	Corpora lutea
1961	38	56	5	75	15	13	Starke Follikelreifung
1962	35	70	5	75	15	13	„ „
1963	32	70	5	75	15	17	Mäßige Follikelreifung
1964	41	75	5	75	15	36	Zahlreiche Corp. lut., daneben sehr starke Follikelreifung
				Mittelwert:		20,8	
				Kontrolltiere			
1925	35	88				21	Follikel aller Reifungsgrade, bei den Tieren Nr. 1927 u. 1928 außerdem Corpora lutea
1926	37	69				27	
1927	35	80				29	
1928	39	55				18	
1929	40	67				18	
				Mittelwert:		22,6	

Tabelle 1 (Fortsetzung).

Tier Nr.	Tiergewicht in g zu Beginn des Versuchs	Tiergewicht in g am Ende des Versuchs	Thyroxin in γ Tagesmenge	Thyroxin in γ Gesamtmenge	Behandlungszeit in Tagen	Ovarium Gewicht in mg	Ovarium Histologischer Befund
1970	29	70	5	110	22	18	Follikelreifung
1971	35	75	5	110	22	26	Starke Follikelreifung
1972	37	85	5	110	22	33	Zahlreiche Corp. lut., starke Follikelreifung
1973	35	69	5	110	22	20	Follikelreifung
1974	34	75	5	110	22	40	Corp. lut., Follikelreifung
1975	40	100	5	110	22	35	Zahlreiche Corp. lut.,
1976	39	70	5	110	22	17	Starke Follikelreifung
1977	40	88	5	110	22	33	Zahlreiche Corp. lut., daneben Follikelreifung
1978	41	110	5	110	22	42	Zahlreiche Corp. lut., mäßige Follikelreifung
1979	34	82	5	110	22	25	Zahlreiche Corp. lut.
					Mittelwert:	28,9	
				Kontrolltiere			
1935	37	90				24	Follikelreifung
1936	41	80				32	Corp. lut., daneben Follikelreifung
1937	49	85				30	Follikelreifung
1938	35	80				25	Zahlreiche Corp. lut.
1939	37	81				26	Starke Follikelreifung
					Mittelwert:	27,4	

von nicht behandelten Tieren keine sicher erkennbaren Unterschiede. Nach 10tägiger Behandlung finden sich in den Keimdrüsen der Versuchstiere große sprungreife Follikel und bei 3 Ratten außerdem Corpora lutea. Das Aussehen der Ovarien der Vergleichsratten entsprach dagegen dem von infantilen Tieren. Dieses unterschiedliche Verhalten ist bei den Tieren der übrigen Gruppen (15- und 22-Tage-Versuch) nicht mehr sicher gegeneinander abzugrenzen, weil sowohl Versuchs- wie auch Kontrolltiere inzwischen geschlechtsreif geworden sind. Es ist noch zu erwähnen, daß die Erscheinungen der Brunst den Vorgängen im Ovarium parallel gingen.

2. Tagesmenge: 200 γ.

Vier Gruppen von insgesamt 25 infantilen Ratten erhielten täglich subcutan 200 γ Thyroxin. Wie in den vorhergehenden Versuchen wurde Gruppe I 5 Tage, Gruppe II 10 Tage, Gruppe III 15 Tage und Gruppe IV 22 Tage lang behandelt. 24 Stunden nach der letzten Injektion wurden die Tiere getötet. Als Kontrollen dienten wieder die in Tabelle 1 aufgeführten Vergleichstiere.

Das Ergebnis der histologischen Untersuchung der Ovarien ist in Tabelle 2 übersichtlich zusammengestellt. Sie zeigt in Übereinstimmung

Tabelle 2. Die Wirkung von Thyroxin auf das Ovarium der infantilen Ratte. Tagesdosis: 200 γ.

Tier Nr.	Tiergewicht in g zu Beginn des Versuchs	Tiergewicht in g am Ende des Versuchs	Thyroxin in γ Tagesmenge	Thyroxin in γ Gesamtmenge	Behandlungszeit in Tagen	Ovarium Gewicht in mg	Ovarium Histologischer Befund
1900	30	†					
1901	30	35	200	1 000	5	12	Wie Tier Nr. 1904
1902	45	54	200	1 000	5	23	
1903	40	45	200	1 000	5	20	Sehr starke Follikelreifung
1904	38	44	200	1 000	5	23	Mäßige Follikelreifung, geringe Follikelatresie
				Mittelwert:		19,5	
1910	38	70	200	2 000	10	18	Geringe Follikelreifung, sonst wie Tier Nr. 1914
1911	25	†					
1912	30	†					
1913	39	66	200	2 000	10	20	Geringe Follikelreifung, degenerative Veränderungen an den reifenden Follikeln
1914	38	53	200	2 000	10	21	
				Mittelwert:		19,6	
1920	30	45	200	3 000	15	17	Geringe Follikelreifung
1921	31	52	200	3 000	15	16	Starke Follikelreifung, degenerative Veränderungen an den reifenden Follikeln
1922	35	49	200	3 000	15	12	
1923	36	51	200	3 000	15	10	
1924	34	48	200	3 000	15	12	
				Mittelwert:		13,4	
1930	32	70	200	4 400	22	16	Starke Follikelreifung, degenerative Veränderungen an den reifenden Follikeln
1931	38	†					
1932	35	65	200	4 400	22	19	
1933	48	†					
1934	38	75	200	4 400	22	20	
1955	36	†					
1956	36	76	200	4 400	22	24	
1957	49	80	200	4 400	22	50	
1958	44	51	200	4 400	22	16	
1959	46	75	200	4 400	22	45	Zahlreiche Corp. lut., geringe Follikelreifung
				Mittelwert:		27,1	

mit den Beobachtungen anderer Autoren[11], daß auch hier die Zeichen einer beschleunigten Eireifung vorhanden sind. Daneben sind aber schon kurze Zeit nach Beginn der Behandlung Veränderungen an den Follikeln nachzuweisen. Sie finden sich in erster Linie an den Follikeln, die in der Reife am weitesten vorgeschritten sind und bestehen in einer Degeneration der Eizellen und der Granulosazellen. Die Folge dieser Veränderungen ist eine Atresie des Follikels und damit ein Ausfall von sprungreifen Graafschen Bläschen. Nur vereinzelt sind in den Ovarien unveränderte voll-

[11] Literatur siehe Handb. d .Gynäkol. (Stöckel, 3. Aufl.) Bd. IX, S. 755—791, München, Bergmann, 1936.

ausgebildete Follikel zu sehen. Bei einem Tier beobachteten wir auch Corpora lutea.

Auf das Gewicht der Keimdrüsen hatte Thyroxin keinen eindeutigen Einfluß. Es finden sich innerhalb der einzelnen Gruppen von Versuchs- und Vergleichstieren starke Schwankungen des Gewichts. Diese Tatsache ist deshalb hervorzuheben, weil man aus alleinigen Änderungen des Gewichts mehrfach Rückschlüsse auf die Funktion der Keimdrüsen gezogen hat.

Obwohl im histologischen Bild des Ovariums alle Zeichen einer beschleunigten Eireifung nachzuweisen waren, blieben entsprechende Veränderungen an der Scheide aus. Dieses Ausbleiben ist vielleicht darauf zurückzuführen, daß infolge frühzeitiger Atresie der Follikel weniger Follikelhormon gebildet wird. Andererseits ist aber auch die Möglichkeit nicht auszuschließen, daß daneben Thyroxin die Bildung von Follikelhormon hemmt bzw. seine Wirkung auf die Erfolgsorgane abschwächt[12].

Zusammenfassung.

Im Ovarium infantiler Ratten finden sich nach Zufuhr von Thyroxin Erscheinungen, deren Grad von der Dosis und von der Zeit der Einwirkung abhängig ist. Bei täglicher Verabfolgung von 5 γ Thyroxin zeigt das Ovarium alle Zeichen einer beschleunigten Eireifung mit Übergang der reifenden Follikel in sprungreife Graafsche Bläschen. Vereinzelt treten auch Corpora lutea auf. Bei täglicher Behandlung mit 200 γ Thyroxin ist ebenfalls eine vermehrte Eireifung nachzuweisen. Die Entwicklung der reifenden Eier findet bei diesen Tieren jedoch einen vorzeitigen Abschluß durch Atresie und cystische Entartung des Follikels.

II. Über die Ursache der Entstehung der strukturellen Veränderungen im Ovarium nach Einwirkung von Schilddrüsenstoffen.

Als mutmaßliche Ursachen für die Entstehung der beobachteten Veränderungen im Ovarium nach Einwirkung von Schilddrüsenstoffen sind folgende Möglichkeiten denkbar:

1. eine Änderung der Empfindlichkeit des Ovariums für die gonadotropen Wirkstoffe der Hypophyse bei gleichbleibender Hypophysentätigkeit, und
2. eine Änderung der Hypophysentätigkeit selbst.

Diese Möglichkeiten waren zu untersuchen.

1. Der Einfluß von Schilddrüsenstoffen auf die Empfindlichkeit des Ovariums für gonadotrope Wirkstoffe der Hypophyse.

Um den Einfluß von Schilddrüsenstoffen auf die Reaktionsfähigkeit des Ovariums kennenzulernen, haben wir die Wirkung von Thyroxin und von Schilddrüsenkolloid auf das künstlich angeregte Ovarium von infantilen

[12] van Horn: Endocrinology (Am.) **17**, 155 (1933); Reiss u. Perény: Endokrinologie **2**, 181 (1928).

Ratten untersucht. Zur Anregung der Keimdrüsentätigkeit benutzten wir Acetontrockenpulver (aus Hypophysen von Schafen), das in Kochsalzlösung aufgeschwemmt, den Ratten an zwei aufeinanderfolgenden Tagen in die Bauchhöhle injiziert wurde. Am 1. Tage erhielt jedes Tier 15 mg, am 2. Tage 30 mg. 100 Stunden nach der ersten Injektion wurden die Tiere getötet, die Ovarien gewogen und histologisch untersucht.

Werden die angegebenen Bedingungen eingehalten, dann zeigt das Ovarium infantiler 22—55 g schwerer Ratten, wie wir bei 60 Tieren nachweisen konnten, immer das gleiche Bild, d. h. es finden sich nur die Zeichen der beginnenden Follikelreifung, Corpora lutea fehlen.

a) Der Einfluß von Thyroxin.

60 infantile Ratten wurden in 6 Gruppen eingeteilt. Die erste Gruppe erhielt an drei aufeinanderfolgenden Tagen täglich subcutan 8 γ, die zweite 16 γ, die dritte 25 γ, die vierte 50 γ, die fünfte 100 γ und die sechste 200 γ Thyroxin. Die Gesamtmenge betrug also bei Gruppe I 24 γ, bei Gruppe II 48 γ, bei Gruppe III 75 γ, bei Gruppe IV 150 γ, bei Gruppe V 300 γ und bei Gruppe VI 600 γ. Nach dieser Vorbehandlung wurden den Tieren am 4. und 5. Versuchstage die oben angegebenen Mengen Hypophysenpulver intraperitoneal injiziert. Am 8. Tage des Versuchs, d. h. 100 Stunden nach der ersten Zufuhr von Acetontrockenpulver wurden die Ratten getötet. Außer den Ovarien untersuchten wir bei allen Tieren auch den Uterus histologisch.

Tabelle 3 und Abb. 1 zeigen eindeutig, daß das Ovarium infantiler Ratten nach Vorbehandlung der Tiere mit Thyroxin auf zusätzlich zu-

Abb. 1. Der Einfluß von Thyroxin bzw. Schilddrüsenkolloid auf die Empfindlichkeit des Ovariums für die gonadotropen Wirkstoffe des Hypophysenvorderlappens (Sensibilisierung des Ovariums durch die Schilddrüse). Abszisse: Menge des zugeführten Thyroxins bzw. Schilddrüsenkolloids. Ordinate: Prozentsatz der Tiere, in deren Ovarien Corpora lutea gefunden wurden. Jeder Stab entspricht einer Gruppe von 10 Tieren.

geführte gonadotrope Substanzen (follikelstimulierende und luteinisierende Substanz) aus Hypophysenvorderlappen anders reagiert als das Ovarium nicht vorbehandelter Vergleichstiere: Dieselben Dosen Hypophysenvorderlappenpulver, die ohne Zusatz von Thyroxin nur die Zeichen der be-

ginnenden Follikelreifung auslösen, bewirken jetzt Follikelreifung und Corpus luteum-Bildung. Die Veränderungen im Ovarium sind dabei von der Menge des verabreichten Thyroxins abhängig. In der ersten Gruppe waren bei 30% der Tiere Corpora lutea in den Ovarien anzutreffen. Bei

Tabelle 3. Die Wirkung von Acetontrockenpulver aus Hypophysenvorderlappen (Gesamtmenge: 45 mg i. p.) auf das Ovarium von mit Thyroxin vorbehandelten infantilen Ratten.

	Tier Nr.	Tiergewicht in g zu Beginn des Versuchs	Tiergewicht in g am Ende des Versuchs	Thyroxin in γ Tagesmenge	Thyroxin in γ Gesamtmenge	Ovarium Gewicht in mg	Ovarium Histologischer Befund
Gruppe I	1560	40	40	8	24	24	Starke Follikelreifung, zahlreiche Corp. lut.
	1561	28	38	8	24	19	Starke Follikelreifung
	1562	28	36	8	24	23	
	1563	23	31	8	24	16	
	1564	29	38	8	24	20	
	1565	30	39	8	24	17	
	1566	28	43	8	24	19	
	1567	23	32	8	24	16	
	1568	33	41	8	24	23	Starke Follikelreifung, Corp. lut.
	1569	31	42	8	24	24	Wie Nr. 1568
				Mittelwert:		20,1	
Gruppe II	1570	27	31	16	48	17	Geringe Follikelreifung
	1571	40	63	16	48	21	Zahlreiche Corp. lut.
	1572	42	59	16	48	19	
	1573	23	33	16	48	22	Starke Follikelreifung, Corp. lut.
	1574	23	30	16	48	17	Starke Follikelreifung
	1575	26	40	16	48	22	Starke Follikelreifung, Corp. lut.
	1576	34	48	16	48	26	
	1577	28	41	16	48	20	
	1578	29	38	16	48	15	Starke Follikelreifung
	1579	28	35	16	48	17	Starke Follikelreifung, Corp. lut.
				Mittelwert:		19,6	
Gruppe III	1340	30	41	25	75	18	Geringe Follikelreifung, Corp. lut.
	1341	28	35	25	75	13	Geringe Follikelreifung
	1342	31	41	25	75	18	Starke Follikelreifung, Corp. lut.
	1343	30	41	25	75	16	
	1344	30	41	25	75	17	Starke Follikelreifung, beginnende Luteinisierung
	1345	31	40	25	75	17	Starke Follikelreifung, Corp. lut.
	1346	34	26	25	75	14	
	1347	30	40	25	75	18	
	1348	29	41	25	75	14	
	1349	28	40	25	75	17	
				Mittelwert:		16,2	

Tabelle 3 (Fortsetzung).

	Tier Nr.	Tiergewicht in g zu Beginn des Versuchs	Tiergewicht in g am Ende des Versuchs	Thyroxin in γ Tagesmenge	Thyroxin in γ Gesamtmenge	Ovarium Gewicht in mg	Ovarium Histologischer Befund
Gruppe IV	1350	30	41	50	150	23	Starke Follikelreifung, Corp. lut.
	1351	28	35	50	150	15	
	1352	30	38	50	150	20	
	1353	38	—	—	—	—	
	1354	31	39	50	150	15	
	1355	25	34	50	150	21	Starke Follikelreifung, beginnende Luteinisierung
	1356	29	36	50	150	19	Starke Follikelreifung
	1357	30	36	50	150	14	Starke Follikelreifung, beginnende Luteinisierung
	1358	30	32	50	150	14	Wie Tier Nr. 1357
	1359	36	50	50	150	19	Starke Follikelreifung, Corp. lut.
				Mittelwert:		17,7	
Gruppe V	1500	40	49	100	300	24	Starke Follikelreifung, Corp. lut.
	1501	36	41	100	300	25	
	1502	29	34	100	300	23	Starke Follikelreifung
	1503	28	32	100	300	18	
	1504	29	37	100	300	21	
	1505	40	45	100	300	17	Starke Follikelreifung, Corp. lut.
	1506	37	44	100	300	24	Wie Tier Nr. 1505
	1507	35	42	100	300	21	Starke Follikelreifung
	1508	36	40	100	300	25	Starke Follikelreifung, Corp. lut.
	1509	28	36	100	300	18	Starke Follikelreifung
				Mittelwert:		21,6	
Gruppe VI	1550	42	49	200	600	19	Starke Follikelreifung, Corp. lut.
	1551	26	40	200	600	17	Starke Follikelreifung
	1552	29	35	200	600	15	Geringe Follikelreifung, Corp. lut.
	1553	29	43	200	600	18	Starke Follikelreifung, Corp. lut.
	1554	29	32	200	600	18	Starke Follikelreifung
	1555	30	50	200	600	29	
	1556	28	41	200	600	26	Starke Follikelreifung, Corp. lut.
	1557	22	22	200	600	11	Geringe Follikelreifung
	1558	25	28	200	600	19	Starke Follikelreifung, Corp. lut.
	1559	35	48	200	600	27	Starke Follikelreifung
				Mittelwert:		19,9	

zunehmender Dosis steigt diese Zahl an und erreicht bei Gruppe III (Gesamtmenge Thyroxin 75 γ) mit 80 % ihren Höchstwert. Bei weiter gesteigerter Zufuhr von Thyroxin reagieren wieder weniger Tiere mit Corpus luteum-Bildung (Gruppe IV, V und VI).

Tabelle 4. Die Wirkung von Thyroxin auf das Ovarium von mit Acetontrockenpulver aus Hypophysenvorderlappen vorbehandelten infantilen Ratten (Gesamtmenge: 45 mg i. p.).

	Tier Nr.	Tiergewicht in g zu Beginn des Versuchs	Tiergewicht in g am Ende des Versuchs	Thyroxin in γ Gesamtmenge	Ovarium Gewicht in mg	Ovarium Histologischer Befund
Gruppe I	1440	40	42	75	13	Sehr starke Follikelreifung
	1441	39	41	75	14	Sehr starke Follikelreifung, Corp. lut.
	1442	40	42	75	13	Sehr starke Follikelreifung
	1443	44	50	75	14	
	1444	40	50	75	12	Sehr starke Follikelreifung, Corp. lut.
	1445	40	50	75	16	Wie Tier Nr. 1444
	1446	41	49	75	15	Sehr starke Follikelreifung
	1447	41	51	75	20	Starke Follikelreifung, Corp. lut.
	1448	45	55	75	16	
	1449	46	54	75	19	
				Mittelwert:	15,2	
Gruppe II	1710	22	30	150	13	Starke Follikelreifung
	1711	44	54	150	27	Sehr starke Follikelreifung, zahlreiche Corp. lut.
	1712	32	46	150	44	Starke Follikelreifung
	1713	30	40	150	18	Starke Follikelreifung, zahlreiche Corp. lut.
	1714	47	55	150	23	Sehr starke Follikelreifung, Corp. lut.
	1715	28	40	150	23	Sehr starke Follikelreifung
	1716	48	60	150	31	Starke Follikelreif., Corp. lut.
	1717	32	46	150	34	Starke Follikelreifung, zahlreiche Corp. lut.
	1718	22	24	150	16	Sehr starke Follikelreifung
	1719	44	49	150	25	Infantiles Organ
				Mittelwert:	25,4	

Es ist noch zu erwähnen, daß das histologische Bild des Uterus immer den Vorgängen im Ovarium entsprach.

Ähnliche Veränderungen wie in den vorstehenden Untersuchungen beobachteten wir auch bei Umkehr der Versuchsanordnung (Tabelle 4). Zwei Gruppen von je 10 infantilen Ratten erhielten an zwei aufeinanderfolgenden Tagen intraperitoneal Hypophysenpulver (Gesamtmenge 45 mg). Am 3. Tage erhielt jedes Tier der ersten Gruppe subcutan 50 γ, jedes Tier der zweiten Gruppe 100 γ und am 4. Tage die Tiere von Gruppe I 25 γ, die Tiere von Gruppe II 50 γ Thyroxin. Am 5. Tage wurden alle Tiere getötet und die Ovarien histologisch untersucht. Hierbei ergab sich, daß, abgesehen von unwesentlichen Abweichungen, das Ovarium auf zusätzlich zugeführte gonadotrope Substanz ebenfalls anders reagierte, d. h. Mengen, die allein injiziert eben Reifungsvorgänge auslösen, bewirken bei Anwesenheit von Thyroxin starke Follikelreifung und Auftreten von Corpora lutea.

Tabelle 5. Die Wirkung von Acetontrockenpulver aus Hypophysenvorderlappen (Gesamtmenge: 45 mg i. p.) auf das Ovarium von mit Schilddrüsenkolloid vorbehandelten infantilen Ratten.

	Tier Nr.	Tiergewicht in g zu Beginn des Versuchs	Tiergewicht in g am Ende des Versuchs	Schilddrüsenkolloid in γ Tagesmenge	Schilddrüsenkolloid in γ Gesamtmenge	Ovarium Gewicht in mg	Ovarium Histologischer Befund
Gruppe I	1360	31	34	500	1 500	14	Starke Follikelreifung, Corp. lut.
	1361	30	31	500	1 500	9	Geringe Follikelreifung, Corp. lut.
	1362	39	55	500	1 500	15	Starke Follikelreifung, Corp. lut.
	1363	31	48	500	1 500	22	
	1365	28	38	500	1 500	17	
	1366	26	33	500	1 500	13	Geringe Follikelreifung
	1367	35	48	500	1 500	20	Starke Follikelreifung, Corp. lut.
	1368	30	45	500	1 500	16	Wie Tier Nr. 1367
	1369	29	39	500	1 500	16	
	1364	28	36	500	1 500	19	
				Mittelwert:		16,1	
Gruppe II	1370	30	35	1 000	3 000	13	Starke Follikelreifung, Corp. lut.
	1371	24	†				
	1372	28	†				
	1373	32	42	1 000	3 000	18	Sehr starke Follikelreifung, beginnende Luteinisierung
	1374	20	35	1 000	3 000	16	Starke Follikelreifung, Corp. lut.
	1375	20	34	1 000	3 000	17	Starke Follikelreifung
	1376	38	51	1 000	3 000	26	
	1377	24	36	1 000	3 000	15	Starke Follikelreifung, Corp. lut.
	1378	25	36	1 000	3 000	16	Starke Follikelreifung
	1379	30	40	1 000	3 000	20	Starke Follikelreifung, Corp. lut.
				Mittelwert:		17,6	
Gruppe III	1380	24	38	1 500	4 500	17	Geringe Follikelreifung
	1381	29	39	1 500	4 500	16	
	1382	22	29	1 500	4 500	13	
	1383	23	40	1 500	4 500	17	Infantiles Organ
	1384	20	†				
	1385	28	38	1 500	4 500	13	Starke Follikelreifung
	1386	26	40	1 500	4 500	17	Starke Follikelreifung, zahlreiche Corp. lut.
	1387	20	38	1 500	4 500	20	Geringe Follikelreifung
	1388	30	32	1 500	4 500	15	Geringe Follikelreifung, Corp. lut.
	1389	32	†				
				Mittelwert:		16,0	

b) Der Einfluß von Schilddrüsenkolloid.

Über die Wirkung von Schilddrüsenkolloid auf das Ovarium gibt Tabelle 5 Aufschluß. Bei diesen Untersuchungen wurden 30 infantile Ratten in drei Gruppen eingeteilt. Die erste Gruppe erhielt an drei aufeinanderfolgenden Tagen täglich subcutan 500 γ, die zweite Gruppe 1000 γ und die dritte Gruppe 1500 γ Schilddrüsenkolloid, das in Kochsalzlösung aufgeschwemmt war. Die Gesamtdosis betrug bei Gruppe I 1500 γ, bei

Gruppe II 3000 γ und bei Gruppe III 4500 γ. Die anschließende Behandlung mit Acetontrockenpulver erfolgte in der früher beschriebenen Weise.

Bei der Sektion der Tiere fanden sich in den Ovarien die gleichen Veränderungen wie nach Einwirkung von Thyroxin. Die Häufigkeit des Auftretens von Corpora lutea war auch hier von der Höhe der Dosis abhängig. In der ersten Gruppe enthielten die Ovarien von 90%, in der zweiten Gruppe von 50% und in der dritten Gruppe von 25% der Tiere Corpora lutea.

Die Beobachtung, daß in den Ovarien von mit Thyroxin oder Schilddrüsenkolloid vorbehandelten infantilen Tieren nach zusätzlicher Zufuhr von unterschwelligen Dosen Hypophysenvorderlappenpulvers Corpora lutea auftreten, deutet zunächst darauf hin, daß die Ansprechbarkeit des Ovariums gegenüber gonadotropen Wirkstoffen der Hypophyse verändert ist. Die sich hieraus ergebende Annahme einer gesteigerten Empfindlichkeit des Ovariums für gonadotrope Wirkstoffe der Hypophyse ist aber nur dann berechtigt, wenn ausgeschlossen werden kann, daß die Tätigkeit der Eigenhypophyse durch Thyroxin unter den angegebenen Bedingungen nicht verändert wird.

2. Der Einfluß von Schilddrüsenstoffen auf die Tätigkeit der Hypophyse.

Über den Einfluß von Schilddrüsenstoffen auf den Gehalt des Hypophysenvorderlappens an gonadotropen Substanzen liegen nur vereinzelte Beobachtungen vor. So geben Evans und Simpson[13] an, daß die Hypophysen von hyperthyreotischen Ratten eine vermehrte, die von hypothyreotischen Ratten eine verminderte gonadotrope Wirksamkeit aufweisen. Nach den Angaben von Smith und Engle[14] zeigen die Hypophysen von schilddrüsenlosen Ratten hinsichtlich ihres Gehalts an gonadotropem Hormon gegenüber denen von normalen Ratten keinen sicheren Unterschied. Ebenso wie Smith und Engle gibt auch van Horn[15] an, daß die gonadotrope Wirksamkeit der Hypophyse 5 Wochen nach Entfernung der Schilddrüse keine eindeutige Veränderung erfährt. Dagegen soll die Menge des gonadotropen Hormons bei täglicher Verfütterung von getrocknetem Schilddrüsengewebe (pro Tag und pro kg 900 mg) nach 6 Wochen vermehrt sein. Diese Vermehrung wird aus der Zunahme des Gewichts der Ovarien der infantilen Tiere abgeleitet, denen die Hypophysen der hyperthyreotischen Ratten implantiert worden waren. Eine histologische Prüfung der Ovarien wurde nicht vorgenommen.

Wie Tabelle 6 zeigt, hat die tägliche Injektion von 5 γ Thyroxin keinen Einfluß auf den Gehalt der Hypophyse an gonadotropem Hormon. Zur Erzielung einer größeren Genauigkeit haben wir die Hypophysen von

---

[13] Evans u. Simpson: Anat. Rec. (Am.) **45**, 215 (1930); zitiert nach van Horn. — [14] Smith u. Engle: Ebenda **45**, 278 (1930); zitiert nach van Horn. — [15] van Horn: Endocrinology (Am.) **17**, 152 (1933).

größeren Tiergruppen vereinigt, gewogen, in Aceton getrocknet und das erhaltene Trockenpulver an infantilen weiblichen Mäusen ausgewertet. Untersucht wurden 1. 30 unbehandelte Ratten und 2. 30 Ratten, die 10 Tage täglich subcutan 5 γ Thyroxin erhalten hatten. Das Gewicht der Versuchs- und Vergleichstiere betrug 60—80 g.

Tabelle 6. Wertbestimmung von gonadotropem Hormon in Hypophysen von mit Thyroxin behandelten normalen Ratten.

	Zahl der Tiere	Durchschnittsgewicht der Hypophyse in mg: der frischen	Durchschnittsgewicht der Hypophyse in mg: der getrockneten	Gonadotropes Hormon: Dosis in mg Trockenhypophyse	Gonadotropes Hormon: Ovarieller Wirkungsgrad *	Gonadotropes Hormon: Oestrus
Unbehandelt ...	30	4,8	1,0	6 × 0,2—0,4	I. + III.	+
Thyroxin (5 γ) ..	30	6,5	1,2	6 × 0,2—0,4	I. + III.	+

* Ovarieller Wirkungsgrad I = Follikelreifung, II = Massenblutung in den Follikel (Blutpunkt), III = Auftreten von Corpora lutea.

Zusammenfassung.

Wie die vorstehenden Versuche zeigen, treten in der Hypophyse von mit Schilddrüsenstoffen behandelten infantilen Ratten keine sicher nachweisbaren Änderungen im Gehalt an gonadotropen Wirkstoffen auf. Diese Feststellung berechtigt zu der Annahme, daß die im Ovarium durch Schilddrüsenstoffe hervorgerufenen Erscheinungen tatsächlich auf einer Änderung der Ansprechbarkeit des Organs gegen gonadotrope Wirkstoffe der Hypophyse beruhen. Dies bedeutet, daß unterschwellige Mengen von gonadotropen Wirkstoffen, wie sie unter physiologischen Bedingungen beim infantilen Tier vorhanden sind, durch kleine Mengen von zusätzlich zugeführten Schilddrüsenstoffen schwellig werden.

Mit anderen Worten: Schilddrüsenstoffe sensibilisieren das Ovarium für die Wirkung von gonadotropen Stoffen, können aber von sich aus die Eireifungsvorgänge nicht auslösen. Die sensibilisierende Wirkung von Schilddrüsenstoffen scheint nur für gonadotrope Wirkstoffe der Hypophyse zu gelten. Die Ansprechbarkeit des Ovariums für gonadotrope Wirkstoffe aus Schwangerenharn (Prolan) wird durch Thyroxin, wie wir bei 90 Ratten nachweisen konnten, nicht verändert. Diese Beobachtung ist ein weiterer Beweis, daß gonadotrope Substanzen aus Schwangerenharn nicht identisch sind mit gonadotropen Wirkstoffen der Hypophyse.

Die eingangs aufgeworfene Frage, ob die durch Follikelhormon über den Uterus ausgelöste Anregung der Schilddrüsentätigkeit für das Ovarium eine Bedeutung hat, ist auf Grund der gewonnenen Ergebnisse zu bejahen. Die physiologische Bedeutung, die diesem Vorgang zukommt, geht aus klinischen Beobachtungen und aus Versuchen am uteruslosen Tier hervor.

III. Die Folgen der Entfernung des Uterus für die Beziehungen zwischen Ovarium, Hypophyse und Schilddrüse.

Die Totalexstirpation des Uterus führt beim Menschen bekanntlich trotz Zurücklassung eines oder beider Ovarien in einem gewissen Prozentsatz der Fälle zu bestimmten Störungen, die in ihren Symptomen den Ausfallserscheinungen nach Kastration ähneln. Diese Erscheinungen können vasomotorischer (Wallungen, Schweißausbrüche, Schwindelanfälle u. a.), psychischer (Gedächtnisschwäche, gemütliche Depressionen u. a.) und trophischer (Atrophie der Genitalorgane, Fettansatz) Natur sein. Obwohl die Beschwerden nicht immer die schweren Formen annehmen wie die Ausfallserscheinungen nach Kastration und im Gegensatz zu diesen bei Frauen jeden Alters auftreten können, hat man sie trotz Anwesenheit der Ovarien dennoch als Ausfallserscheinungen bezeichnet.

Über die Entstehungsursachen der hier nur kurz angedeuteten Veränderungen waren die Meinungen von jeher verschieden. Einige Auffassungen seien angeführt: Werth[16] u. a. haben angenommen, daß die Ovarien nach der Exstirpation des Uterus infolge Störungen der Nervenversorgung und teilweisen Ausschaltung der Gefäßverbindungen atrophieren und vorzeitig ihre Funktionen einstellen. Aschner[17] u. a. sahen im Uterus ein exkretorisches Organ, dessen Aufgabe darin bestehen sollte, die für den weiblichen Organismus schädlichen Stoffe zu entfernen. Nach Exstirpation des Uterus werden diese im Körper zurückgehalten und so zur Ursache für das Auftreten mannigfacher Störungen. Pankow[18], Fellner[19], Parfenoff[20], Hauptstein und Bühler[21] u. a. nehmen für den Uterus eine besondere endokrine Funktion an. Da der Ausfall des Uterus als innersekretorisches Organ ähnliche Veränderungen verursacht wie die Kastration, hat Pankow zur Vermeidung von Verwechslungen mit diesen für die Ausfallserscheinungen nach Exstirpation des Uterus den Namen uterine Ausfallserscheinungen vorgeschlagen und sie den ovariellen gegenübergestellt.

Die auffallende Übereinstimmung zwischen uterinen und ovariellen Ausfallserscheinungen läßt verstehen, daß man schon frühzeitig einen Einfluß des Uterus auf die Keimdrüsentätigkeit angenommen hat. Das anatomische und funktionelle Verhalten der Ovarien nach operativer Entfernung des Uterus ist daher bis in die jüngste Zeit Gegenstand zahlreicher Arbeiten gewesen. Experimentell hat man die Frage, ob die Keimdrüsentätigkeit nach Totalexstirpation des Uterus erhalten bleibt, bei Ratten[22],

---

[16] Literatur siehe Keitler: Mschr. Geburtsh. **20**, 686 (1904). — [17] Aschner: Arch. Gynäk. **124**, 113 (1925); daselbst weitere Literatur. — [18] Pankow: Münch. med. Wschr. **1909**, S. 265. — [19] Fellner: Pflügers Arch. **231**, 410 (1933). — [20] Parfenoff: Mschr. Geburtsh. **88**, 423 (1931). — [21] Hauptstein u. Bühler: Arh. Gynäk. **162**, 11 (1936). — [22] Fellner: Pflügers Arch. **231**, 410 (1933); Tanaka: Ber. Gynäk. **33**, 344 (1937); Kross: Amer. J. Obstetr. **1922**, zit. nach Winter; Hauptstein u. Bühler: Arch. Gynäk. **162**, 1 (1936); Wobker: Ebenda **167**, 339 (1938); Winter: Ebenda **150**, 602 (1932).

Tabelle 7. Der Einfluß der Totalexstirpation des Uterus (

Tier Nr.	Körpergewicht in g vor der Operation	Körpergewicht in g vo Tag 6.	7.	8.	10.	14.	16.	20.	22.	24.
										I. Uteruslos
60	101	110	111	109	107	126	130	134	136	148
61	96	100	100	100	100	113	116	115	123	125
62	101	110	112	110	111	126	135	130	145	149
63	106	117	119	117	100	103	138	136	145	150
64	125	135	134	131	147	145	148	140	145	162
65	145	156	158	154	173	166	175	165	176	180
66	145	144	141	137	154	150	155	142	157	164
67	112	115	113	111	120	115	120	112	114	125
68	139	141	141	155	146	160	160	170	180	175
69	90	102	113	110	104	115	115	118	126	131
70	112	112	112	116	118	132	130	138	148	145
71	88	99	100	95	96	100	100	111	113	120
										II. Kastriert
190	95	104	104	115	115	130	134	145	151	155
191	80	85	86	94	96	103	93	90	86	85
192	93	94	86	91	90	91	93	105	114	120
193	102	110	114	122	123	141	144	160	162	170
194	96	99	100	105	105	116	125	131	140	140
195	90	88	90	95	95	105	114	125	128	135
196	76	90	93	98	98	112	122	138	149	145
197	89	70	81	86	83	92	109	110	116	120
198	85	90	95	98	94	114	121	140	154	160
199	78	90	91	100	104	114	120	121	132	135
										III. Normal
200		104	104	105	110	111	115	121	128	128
201		105	102	108	111	126	129	136	140	145
202		111	106	111	114	118	123	125	125	126
203		98	95	103	106	111	125	130	132	135
204		105	91	96	100	115	121	125	126	130
205		130	134	138	140	151	165	165	165	170
206		94	94	98	100	111	116	120	123	125
207		90	97	91	98	108	109	111	114	115
208		91	105	109	110	113	121	134	140	145
209		92	94	97	99	106	112	115	120	120
210		110	110	114	115	120	124	125	126	130
211		85	83	88	91	102	115	130	130	135
212		114	112	118	116	123	131	136	150	145
213		119	124	122	125	129	132	138	141	140

bei Mäusen[23], bei Kaninchen[24], bei Meerschweinchen[25], bei Hunden[26], bei Frettchen[27] und bei Affen[28] geprüft. Trotz der Vielzahl der Untersuchungen

[23] Parfenoff: Mschr. Geburtsh. **88**, 423 (1931); Wobker: Arch. Gynäk. **167**, 339 (1938); Wijsenbeck u. de Jongh: Ndld. Tschr. Geneesk. **1927**, S. 847; Westmann: Zbl. Gynäk. **1929**, S. 2578; Kok: Arch. Gynäk. **141**, 255 (1930). — [24] Siegmund: Arch. Gynäk. **157**, 223 (1934); **160**, 472 (1936); Zimmermann: Ebenda **134**, 328 (1928); Lindig: Ebenda **117**, 289 (1922); **120**, 233 (1923); Grammaticati: Zbl. Gynäk. **1889**, S. 105; Keitler: Mschr. Geburtsh. **20**, 686 (1904);

bzw. der Ovariektomie (II) auf das Körpergewicht von Ratten.

3.—108. Tage nach der Operation

27.	29.	31.	35.	37.	60.	75.	81.	87.	93.	108.
Ratten										
157	155	156	161	—	190	160	192	194	185	235
128	135	130	136	131	150	125	154	150	152	188
150	157	160	158	155	170	175	190	205	205	197
150	157	155	163	158	164	170	184	184	185	166
157	160	170	164	174	185	180	192	195	196	190
190	193	200	200	—	205	200	225	230	225	250
167	170	178	170	181	170	170	192	185	196	194
129	136	140	145	152	175	174	195	180	180	185
185	180	185	182	—	190	165	186	195	208	235
136	132	136	—	—	148	120	138	160	165	188
155	152	164	158	—	180	150	160	179	180	197
119	122	121	119	—	138	118	130	—	150	166
Ratten										
157	160	175	160	185	203	203	215	205	210	215
86	90	100	105	120	162	172	175	182	185	190
130	135	145	145	170	190	212	209	205	210	220
175	175	180	185	215	225	234	225	243	240	250
145	150	150	145	170	197	198	200	210	220	225
140	150	155	155	180	198	206	210	220	210	220
142	150	150	145	170	190	190	198	205	205	215
125	140	140	155	165	198	210	215	223	240	250
170	185	190	185	210	255	260	280	295	300	305
140	160	155	160	195	216	230	220	255	245	245
Ratten										
130	135	140	130	145	158	166	170	172	180	185
148	150	155	145	160	203	198	205	198	200	210
130	130	140	125	145	145	145	150	147	150	150
138	140	150	140	155	162	168	170	170	180	180
148	135	135	130	140	165	169	180	169	175	185
174	180	180	180	205	198	203	215	225	230	225
130	135	140	130	150	168	176	184	183	186	186
124	130	135	125	140	162	155	152	164	170	172
145	150	160	145	160	173	180	176	185	185	190
122	125	130	125	145	148	138	†	—	—	—
132	135	135	130	150	153	166	166	167	160	165
140	150	150	140	160	163	163	173	175	175	180
150	150	155	150	170	182	187	199	191	210	220
145	150	150	145	160	178	188	188	193	200	200

sind die Ergebnisse und die auf Grund der erhaltenen Befunde abgeleiteten Folgerungen sehr widersprechend. Man hat entweder keine bzw. geringe

Tonkes: Zbl. Gynäk. **1936**, S. 35; Asdell u. Hammond: Amer. J. Physiol. **103** 600 (1933). — [25] Loeb: Amer. J. Physiol. **83**, 202 (1927/28); Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **20**, 441 (1923); Lindig: l. c.; Fellner: l. c. — [26] Henkel: Zitiert nach Fellner; Jakobsohn: Zbl. Gynäk. **1914**, S. 1014. — [27] Deanesly u. Parkes: J. Physiol. (Brit.) **78**, 80 (1933). — [28] Literatur siehe Krane: Arch. Gynäk. **164**, 102 (1937).

oder schwere degenerative Veränderungen in den Ovarien festgestellt und sie als Beweis für das Erhaltenbleiben oder Aufhören der Funktion gedeutet. Es ist also unmöglich, sich eine einheitliche Vorstellung von den Beziehungen zwischen Keimdrüsentätigkeit und Uterus zu machen.

Unter Berücksichtigung der eingangs erwähnten Erkenntnisse haben wir daher die Folgen der Entfernung des Uterus für den Organismus sowie die Bedeutung des Uterus für den Ablauf innersekretorischer Vorgänge näher analysiert.

Methode: Alle Untersuchungen wurden an geschlechtsreifen Ratten ausgeführt. Die Totalexstirpation des Uterus wurde einzeitig in Urethannarkose durch Öffnung der Bauchhöhle vorgenommen. Zur Schonung der Gefäßgebiete des Genitalsystems haben wir den Uterus zunächst am tubaren und vaginalen Übergang ligiert, die Serosa mit den anhaftenden Gefäßen zwischen den Unterbindungsstellen stumpf abgelöst und den so freigelegten Uterus entfernt. Blutungen treten bei diesem Vorgehen nicht auf. Außerdem bleiben die Gefäßversorgung des Ovariums und die Anastomosen zwischen der A. uterina und A. ovarica erhalten. Die Tiere vertrugen den Eingriff gut und waren in der Regel 2—3 Tage nach der Operation wieder vollständig erholt.

A. Allgemeinwirkungen.

Um Fehlerquellen bei der Beurteilung der Folgen der Uterusentfernung für den Allgemeinzustand auszuschalten, haben wir das Verhalten von uteruslosen Ratten mit dem Verhalten von solchen verglichen, bei denen unter gleichen Bedingungen (Narkose) nur eine Probelaparatomie vorgenommen worden war. Während die Kontrolltiere schon in den ersten Tagen nach der Operation ihre Lebhaftigkeit und Abwehrlust wiedergewannen, blieben die Versuchstiere in der Folgezeit ruhig und träge. Diese Erscheinungen verschwanden erst in der 4. Woche post operat., so daß ihr Verhalten jetzt nicht mehr von dem der Vergleichstiere zu unterscheiden war. Im Verlauf der weiteren Beobachtungszeit (6.—7. Monat) zeigte ein Teil der uteruslosen Ratten vermehrte Freßlust, gesteigerten Bewegungsdrang und erhöhte Angriffslust.

Auf die äußeren Genitalien hatte die Entfernung des Uterus in unseren Versuchen keinen Einfluß. Der Geschlechtstrieb blieb bei allen Tieren erhalten. Diese Tatsachen sind deshalb besonders hervorzuheben, weil das Fehlen von atrophischen Veränderungen an Scheide und Brustdrüse einen grundsätzlichen Unterschied gegenüber dem Verhalten von kastrierten Tieren darstellt: denn beim Kastraten tritt bekanntlich schon innerhalb kürzester Zeit eine Atrophie der sekundären Geschlechtsorgane auf. Ähnliche Beobachtungen hat Pankow[29] beim Menschen gemacht, und daraus geschlossen, „daß die Ursachen der klinischen Erscheinungen nach der Entfernung der Ovarien einerseits und nach der Wegnahme des Uterus andererseits nicht auf einer einheitlichen Ursache beruhen können".

Das Verhalten des Körpergewichts nach Entfernung des Uterus ist aus Tabelle 7 zu ersehen. Sie enthält eine Gegenüberstellung der Ge-

[29] Pankow: Münch. med. Wschr. **1909**, S. 265.

wichte von kastrierten und uteruslosen Ratten. Aus ihr geht hervor, daß das kastrierte Tier eine stärkere und schnellere Gewichtszunahme aufweist als das uteruslose Tier. Daß sich das Fehlen des Uterus dennoch auf das Körpergewicht auswirkt, zeigen die in Abb. 2 wiedergegebenen Gewichtskurven von normalen, uteruslosen und kastrierten Ratten. Nach Entfernung des Uterus nimmt das Gewicht der Tiere zunächst ebenfalls zu. Dieser Anstieg setzt sich aber nicht wie bei den kastrierten Tieren gleichmäßig fort. Es tritt vielmehr wieder eine Abnahme des Gewichts ein, so daß am 105. Tage nach der Totalexstirpation des Uterus die Gewichtszahlen unter denen der normalen Tiere liegen.

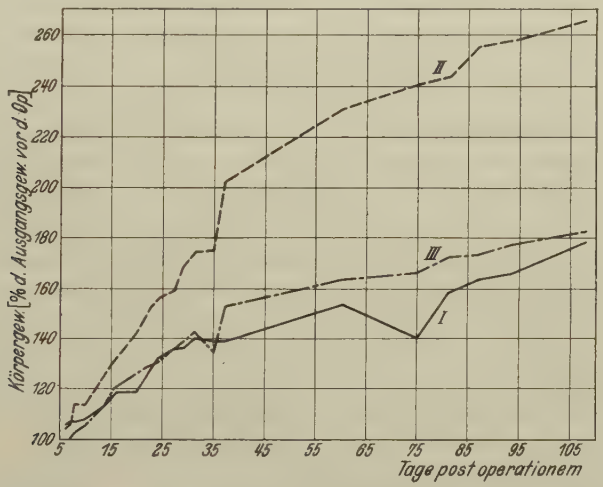


Abb. 2. Das Verhalten des Körpergewichtes von normalen, kastrierten und uteruslosen Ratten. Abszisse: Zeit in Tagen nach der Operation. Ordinate: Körpergewicht in % des Ausgangsgewichtes vor der Operation. Kurve I (uteruslose Ratten) entspricht den Mittelwerten von 12 Tieren, Kurve II (kastrierte Ratten) den Mittelwerten von 10 Tieren und Kurve III (normale Ratten) den Mittelwerten von 14 Tieren.

B. Die Folgen der Entfernung des Uterus für die Genitalsphäre.

Neben den Veränderungen an anderen Organen wie Hypophyse und Schilddrüse, auf die später näher eingegangen werden soll, haben wir insbesondere die Erscheinungen an den Ovarien, an der Brustdrüse und an der Scheide histologisch untersucht. Zu diesem Zwecke wurden 122 Ratten, denen in der eingangs beschriebenen Weise der Uterus entfernt worden war, in verschiedene Gruppen eingeteilt und diese in bestimmten Zeitabständen getötet. Die Versuchszeit betrug bei der ersten Gruppe (40 Ratten) 14 Tage, bei der zweiten Gruppe (19 Ratten) 28 Tage, bei der dritten Gruppe (19 Ratten) 90 Tage, bei der vierten Gruppe (16 Ratten) 120 Tage und bei der fünften Gruppe (28 Ratten) 210 Tage. Die Einzelergebnisse dieser Versuche lassen sich kurz folgendermaßen zusammenfassen:

1. Der Einfluß auf die Struktur und die Funktion des Ovariums.

Das strukturelle Bild des Ovariums, das bei der geschlechtsreifen Ratte durch das Nebeneinanderbestehen von Follikeln aller Reifungsgrade und von Corpora lutea gekennzeichnet ist, zeigt 14 Tage (Gruppe I) und 28 Tage (Gruppe II) nach der Exstirpation des Uterus eine Hemmung der Eireifungsvorgänge. Im dritten (Gruppe III) und vierten Monat (Gruppe IV) nach der Operation konnten wir in Übereinstimmung mit den Angaben von Hauptstein und Bühler[30] u. a. bei der Mehrzahl der Tiere neben zahlreichen reifen Follikeln eine eindeutige Vermehrung der Zahl der Gelbkörper nachweisen. Dasselbe gilt für die Tiere der letzten Gruppe (7 Monate post. operat.). Auch bei ihnen war das Verhältnis von Corpora lutea zu reifenden bzw. reifen Follikeln zugunsten der Gelbkörper verschoben. Zum Unterschied von Gruppe III und IV fanden sich in vielen Ovarien der Tiere der Gruppe VII außerdem vermehrtes Auftreten von Corpora lutea atretica und zugrunde gehende Follikel mit den charakteristischen Erscheinungen der Degeneration an Ei- und Granulosazelle. Ausgedehnte degenerative Veränderungen oder bindegewebige Entartung des Eierstocks, wie sie von Parfenoff[31] sowie Hauptstein und Bühler[32], Tonkes[33] u. a. beschrieben wurden, ließen sich nicht feststellen. Ebenso war das interstitielle Gewebe[34] nicht vermehrt. Nur in einem Ovarium (Gruppe VII, Ratte Nr. 1072) fehlten die Corpora lutea vollständig. Das normale Gewebe war hier durch wuchernde Granulosazellen ersetzt, die in Form und Anordnung denen glichen, wie wir sie vom menschlichen Granulosazelltumor (Follikulom) her kennen. Erwähnenswert ist schließlich noch, daß die Ovarialkapsel bei mehreren Tieren (siehe Tabelle 8) infolge mechanischer Abflußbehinderung cystisch erweitert und mit Flüssigkeit gefüllt war. Diese Flüssigkeit enthielt Follikelhormon: Injiziert man nämlich den Inhalt der Cysten einer kastrierten Maus, dann treten bei diesem Tier die dem Follikelhormon eigenen Wirkungen auf, d. h. der Scheidenabstrich wird positiv.

Über den Einfluß der Entfernung des Uterus auf das Gewicht der Ovarien gibt Tabelle 8 Aufschluß. Sie zeigt, daß wesentliche Änderungen des Gewichtes nicht eintreten. Im einzelnen fanden wir bei Gruppe III einen Mittelwert von 68 mg, bei Gruppe IV einen Mittelwert von 61,6 mg und bei Gruppe V einen Mittelwert von 80,8 mg gegenüber 71,5 mg bei ungefähr gleich schweren normalen Ratten.

Wenn man aus dem anatomischen Bild eines innersekretorischen Organs auf dessen verminderte oder vermehrte Tätigkeit bindende Schlüsse ziehen will, muß man erwarten, daß den anatomischen Veränderungen auch bestimmte Erscheinungen an den Erfolgsorganen entsprechen. Es

[30] Hauptstein u. Bühler: Arch. Gynäk. **162**, 6 (1936). — [31] Parfenoff: Mschr. Geburtsh. **88**, 429 (1931). — [32] Hauptstein u. Bühler: Arch. Gynäk. **162**, 6 (1936). — [33] Tonkes: Zbl. Gynäk. **1936**, S. 36. — [34] Parfenoff: l. c. S. 429.

zeigt sich, daß der Scheidencyclus bei uteruslosen Ratten erhalten bleibt, aber unregelmäßig wird (Abb. 3). Gesetzmäßige Änderungen, wie Hauptstein und Bühler[35] angeben, konnten wir dabei nicht feststellen. Man findet einmal Tiere, bei denen die Erscheinungen der Brunst kurze Zeit nach der Operation in unregelmäßigen Abständen zunächst wieder auftreten und dann für längere Zeit ausbleiben (Ratte Nr. 1061). Andere Tiere (Ratte Nr. 1068) zeigen nach anfänglichem Aussetzen der Brunst erst nach Monaten wieder einen positiven Scheidenabstrich. Nur bei einem Tier (Ratte Nr. 1072) waren die Brunststadien verlängert. Es

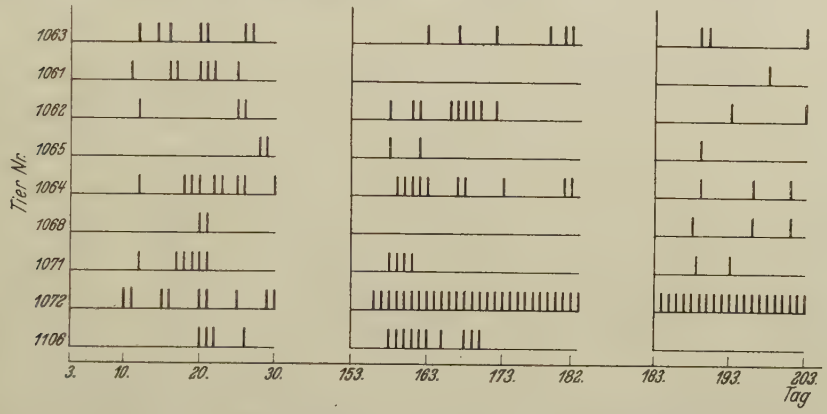


Abb. 3. Der Einfluß der Totalexstirpation des Uterus auf den Cyclus der Scheide von Ratten. Vom 30. bis 153. Tage nach der Operation (Ende April bis Ende August) wurde der Scheidenabstrich nicht untersucht. (⊥ = Schollenstadium). Die Kurven stellen eine Auswahl aus 122 untersuchten Ratten dar.

kam zur Dauerbrunst, die mehrere Monate anhielt. Ähnliche Beobachtungen wie wir machten auch Winter[36], Kok[37], Parfenoff[38], Fellner[39] u. a.

Die angeführten Versuche zeigen eindeutig, daß die Funktion der Ovarien nach Entfernung des Uterus erhalten bleibt. Im Vergleich zu normalen Ratten ist jedoch die Zahl der Corpora lutea in den Ovarien von uteruslosen Ratten vermehrt. Dieses vermehrte Auftreten von Gelbkörpern kann man sich so vorstellen, daß infolge einer Beschleunigung der Eireifungsvorgänge mehr sprungreife Follikel entstehen oder, wie Siegmund[40] annimmt, daß die Rückbildung der normalerweise entstehenden Corpora lutea aufgehalten wird. Im zweiten Falle bliebe dann die Funktion der Gelbkörper wie in der Schwangerschaft länger erhalten. Beiden Auffassungen entspricht das Verhalten des Scheidenzyklus. Es ist nämlich bekannt, daß Corpus luteum-Hormon die Brunst hemmt. Ihr zeitweiliges Ausbleiben in unseren Versuchen findet daher durch die

[35] Hauptstein u. Bühler: Arch. Gynäk. **162**, 5 (1936). — [36] Winter: Ebenda **150**, 608 (1932). — [37] Kok: Ebenda **141**, 255 (1930). — [38] Parfenoff: Mschr. Geburtsh. **88**, 429 (1931). — [39] Fellner: Pflügers Arch. **231**, 417 (1931). — [40] Siegmund: Arch. Gynäk. **157**, 227 (1934).

vermehrte Bildung von Corpora lutea ihre zwanglose Erklärung. Gestützt wird diese Ansicht noch durch den Befund der Dauerbrunst bei Ratte Nr. 1072. Wie wir bereits ausführten, fand sich in dem Ovarium dieses Tieres kein Corpus luteum, sondern eine starke Wucherung von Granulosazellen, die von vielen als Produktionsstätte[41] des Follikelhormons angesehen werden.

Tabelle 8. Der Einfluß der Entfernung des Uterus auf das Gewicht des Ovariums von Ratten (Versuchsdauer: 3, 4 und 7 Monate).

Tier Nr.	Tiergewicht in g zu Beginn des Versuchs	Tiergewicht in g am Ende des Versuchs	Organgewicht in mg Ovarium	Organgewicht in mg Nebennieren	Organgewicht in mg Hypophyse	Bemerkungen
I. 90 Tage nach Entfernung des Uterus (Gruppe III)						
1620		240	95	84		
1621		240	83	85		
1622		260	79	73		
1623		235	47	57		
1624		195	43	38		
1625		200	77	45	Mittelgewicht 13,2	
1626		190	62	53		
1627		195	64	74		
1628		220	44	51		Cystische Erweiterung der Ovarialkapsel rechts
1629		200	56	55		
1630		255	66	72		
1631		230	65	80		
1632		240	79	79		
1633		210	92	92		
	Mittelwert:		68			
II. 120 Tage nach Entfernung des Uterus (Gruppe IV)						
68		210	97	88		Cystische Erweiterung der Ovarialkapsel links
69		174	57	71		
70		184	53	56		
71		155	77	58		
60		200	56	92		
61		160	46	64		
62		206	61	62	Mittelgewicht: 11,8	
63		185	55	88		
64		195	88	97		Cystische Erweiterung der Ovarialkapsel beiderseits
65		242	69	59		Wie Tier Nr. 64
66		200	60	92		
67		180	63	61		Wie Tier Nr. 68
150		240	69	71		
151		200	58	57		
152		215	42	57		
153		180	35	46		
	Mittelwert:		61,6			

[41] Siegert: Jkurse ärztl. Fortbild. **1933**, Heft 7, S. 4.

Tabelle 8 (Fortsetzung).

Tier Nr.	Tiergewicht in g zu Beginn des Versuchs	Tiergewicht in g am Ende des Versuchs	Organgewicht in mg Ovarium	Organgewicht in mg Nebennieren	Organgewicht in mg Hypophyse	Bemerkungen
III. 210 Tage nach Entfernung des Uterus (Gruppe V)						
1116	165	280	70	90		Wie Tier Nr. 64
1118	150	170	64	63		
1119	175	240	108	74		Wie Tier Nr. 64
1110	150	220	102	69		
1111	150	190	74	58		
1112	145	170	88	70		
1114	155	180	76	68		Wie Tier Nr. 64
1100	165	270	99	66		
1101	190	205	67	55		
1102	185	225	87	74		
1103	165	220	94	79		
1105	165	215	122	69		
1106	175	210	137	71	Mittelgewicht: 13,2	
1071	190	190	78	66		Wie Tier Nr. 64
1072	180	210	83	77		
1075	140	200	54	66		
1076	145	195	38	66		
1077	200	240	87	78		
1078	190	200	91	84		
1079	125	230	104	102		
1065	120	195	69	60		
1067	140	185	63	70		Wie Tier Nr. 64
1068	140	240	97	85		
1069	115	200	52	67		
1061	150	210	64	555		
1062	145	190	79	60		
1063	160	200	89	73		
1064	140	190	48	51		
	Mittelwert:		80,8			

Tier Nr.	Tiergewicht in g zu Beginn des Versuchs	Tiergewicht in g am Ende des Versuchs	Organgewicht in mg Ovarium	Organgewicht in mg Nebennieren	Organgewicht in mg Hypophyse	Gewicht der Schilddrüse in mg
IV. Normale Ratten (Kontrollen)						
1081	250		102	75	17	29
1082	220		84	95	18	40
1083	210		25	83	12	31
1084	200		94	97	13	26
1085	260		101	89	15	36
1086	200		93	—	11	26
1087	260		31	—	8	40
1088	190		89	67	9	24
1089	205		77	58	14	34
1640	140		69	66	7,5	17
1641	165		61	47	7,5	26
1642	175		75	44	7,5	21
1643	165		63	48	8	19
1644	170		78	50	9	24
1645	170		55	50	7	20
1646	160		43	37	6,5	19
1647	190		70	67	10	19
1648	160		72	48	7,5	20
1649	155		78	51	7,5	23
	Mittelwert:		71,5		10,3	26

2. Der Einfluß auf die Brustdrüse.

Auf die Struktur der Brustdrüse hatte die Entfernung des Uterus in unseren Versuchen keinen Einfluß. In dem Fehlen von atrophischen Veränderungen sehen wir einen weiteren Beweis dafür, daß die Funktion des Ovariums bei uteruslosen Tieren zunächst erhalten bleibt.

3. Der Einfluß auf die Scheide.

Das anatomische Bild der Scheide entsprach bei allen Tieren dem der Funktion: Während der Brunst war die Scheide mit verhorntem Plattenepithel ausgekleidet; während der brunstfreien Intervalle fand sich ein flaches, aus wenigen Zellagen bestehendes Epithel.

Aus allen Versuchen ergibt sich, daß die Folgen der Entfernung des Uterus für den Organismus andere sind als die nach Entfernung der Keimdrüsen. Während die sekundären Geschlechtsorgane beim kastrierten Tier schon kurze Zeit nach der Operation atrophisch werden, bleiben regressive Veränderungen an den Geschlechtsorganen beim uteruslosen Tier zunächst aus. Weiterhin fehlen Allgemeinerscheinungen (Temperament, Erlöschen des Geschlechtstriebes u. a.), insbesondere Fettansatz. Das uteruslose Tier wird zwar in den ersten Wochen nach dem Eingriff ruhiger, träger und nimmt an Gewicht zu, diese Erscheinungen bilden sich jedoch wieder zurück bzw. kehren sich später in das Gegenteil um. Die Erklärung für dieses unterschiedliche Verhalten ergibt sich aus der anatomischen und funktionellen Untersuchung der Ovarien.

Die Totalexstirpation des Uterus ist nun kein gleichgültiger Eingriff: Die Tätigkeit des Ovariums als solche bleibt zwar erhalten, sie verläuft jedoch andersartig. Der sichtbare Ausdruck für die veränderte Keimdrüsentätigkeit ist das vermehrte Auftreten von Corpora lutea. Ihre Entstehung beruht, wie später noch eingehend zu begründen ist, darauf, daß beim uteruslosen Tier die gesetzmäßigen Wachstumsvorgänge im Ovarium, ähnlich wie nach Zufuhr von großen Mengen gonadotroper Substanz aus Hypophysenvorderlappen, durch eine ungeordnete, überstürzte Entwicklung von Follikeln mit Übergang dieser Follikel in funktionstüchtige Gelbkörper, deren Funktion vielleicht auch länger erhalten bleibt, ersetzt werden. Wie die Prüfung des Scheidenabstrichs zeigt, kann dabei zeitweise Follikelhormon oder Corpus luteum-Hormon überwiegen, ohne daß jedoch Regelmäßigkeiten erkennbar sind.

Zu ähnlichen Folgerungen wie wir kam auch Winter[42], der aus seinen Ergebnissen schließt, „daß der Uterus selbstverständlich nur als kleines Glied in der Kette der Gesamtheit der Drüsen mit innerer Sekretion, als Regulator der Ovarialhormone zu gelten hat. Wahrscheinlich ist er ihr Speicherungsort. Sein Fortfall bedeutet eine gewisse Verschiebung im Hormonhaushalt des Ovars, die wir objektiv an dem unregelmäßigen Ver-

[42] Winter: Arch. Gynäk. **150**, 614 (1932).

halten des Oestruszyklus feststellen können. Zuletzt kommt es dann auch zu anatomischen Veränderungen im Ovar, für die wir, zur Zeit wenigstens, keine Erklärung geben können. Möglicherweise kommt es durch den Fortfall dieses ‚Speicherungsorgans' zu Verschiebungen im Gesamtsystem der endokrinen Drüsen und durch deren veränderte Funktion auf diesem Wege zu den anatomischen Veränderungen im Ovar (Hypophyse?)."

C. Der Einfluß der Entfernung des Uterus für die Beziehungen zwischen Ovarium, Hypophyse und Schilddrüse.

Die nachgewiesenen anatomischen Veränderungen im Ovarium von uteruslosen Ratten lassen vermuten, daß die Ursachen für die beobachteten Erscheinungen auch hier wieder in einer Änderung der Hypophysentätigkeit oder in einer Änderung der Empfindlichkeit des Ovariums für die gonadotropen Wirkstoffe der Hypophyse zu suchen sind.

1. Der Einfluß auf die Struktur und die Funktion der Hypophyse.

Die unterschiedlichen Folgen der Ovariektomie gegenüber der Totalexstirpation des Uterus sind auch bei der Untersuchung der Hypophyse zu erkennen. Bekanntlich ist das anatomische Bild der Hypophyse von kastrierten Tieren durch das Auftreten von Kastrationszellen und Vermehrung der eosinophilen Zellen gekennzeichnet. Beim uteruslosen Tier fehlen diese Veränderungen. Nur bei den Tieren der Gruppe V (Versuchsdauer: 7 Monate) fanden wir eine Zunahme der acidophilen Epithelien. Kastrationszellen waren jedoch auch hier nicht nachzuweisen.

In Übereinstimmung mit den Veränderungen der geweblichen Struktur ließen sich auch gewisse Änderungen im Gehalt der Hypophyse an Hormonen feststellen. Dabei ergaben sich wiederum Unterschiede zwischen uteruslosen und kastrierten Tieren. Während die Hypophyse kastrierter Ratten im Vergleich zu normalen Ratten mehr thyreotropes[43] und mehr gonadotropes[44] Hormon enthält, bleibt der Gehalt der Hypophyse an gonadotropem Hormon bei uteruslosen Tieren unverändert (Tabelle 9). Dabei ist es gleichgültig, ob die Hypophysen von Tieren stammen, die einen oder sieben Monate nach der Operation getötet wurden. Dieser Befund steht im Gegensatz zu den Angaben von anderen Autoren[45], nach denen die Entfernung des Uterus eine Abnahme des Gehalts der Hypophyse an gonadotropen Hormonen bewirken soll. Der Grund für diese verschiedenen Ergebnisse dürfte darin zu suchen sein, daß die von uns vorgenommene Auswertung von Hypophysen ganzer Tiergruppen eine größere Genauigkeit gewährt als die einzelner Tiere.

[43] Grumbrecht u. Loeser: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **189**, 368 (1938). — [44] Literatur siehe Hohlweg u. Junkmann: Pflügers Arch. **232**, 148 (1933). — [45] Hauptstein u. Bühler: Arch. Gynäk. **162**, 9 (1936).

Tabelle 9. Wertbestimmung von gonadotropem und thyreotropem Hormon in Hypophysen von uteruslosen Ratten.

	Zahl der Tiere	Durchschnittsgewicht der Hypophyse in mg		Gehalt der Hypophyse an thyreotropem Hormon in MsE		Gonadotropes Hormon		
		der frischen	der getrockneten	pro mg Trockenhypophyse	pro Gesamthypophyse	Dosis in mg Trockenhypophyse	Ovarieller Wirkungsgrad	Oestrus
Unbehandelt	34	7,6	1,18	5—10	6-12	6×0,2 —0,4	I+III	+
Kastrierte Ratten (14 Tage post operat.)	39	8,1	1,44	5—10	7-14			
Kastrierte Ratten (28 Tage post operat.)	29	8,7	1,72	5—10	8-17			
Uteruslose Ratten (1 Monat post operat.)	5	8	1,7	5	~8,5			
Uteruslose Ratten (3 Monate post operat.)	12	13,2	2,5	5—10	~12-25			
Uteruslose Ratten (4 Monate post operat.)	14	11,8	2,2	5—10	~11-22	6×0,2 —0,4	I+III	+
Uteruslose Ratten (7 Monate post operat.)	26	13,2	2,6	10—20	~25-50			

Die Menge des in der Hypophyse uterusloser Ratten nachweisbaren thyreotropen Hormons ist ebenso wie beim kastrierten Tier eindeutig vermehrt. Wie Tabelle 9 zeigt, enthält die Hypophyse normaler 150—180 g schwerer weiblicher Ratten etwa 6—12 MsE (Meerschweincheneinheiten), die Hypophyse gleichschwerer, kastrierter weiblicher Ratten 7—14 (14 Tage post operat.) bzw. 8 -17 (28 Tage post operat.) MsE thyreotropes Hormon[46]. Bei uteruslosen Ratten fanden wir folgende Zahlen: 1 Monat nach der Operation 8,5 MsE, 3 Monate nach der Operation 12—25 MsE, 4 Monate nach der Operation 11—22 MsE und 7 Monate nach der Operation 25—50 MsE thyreotropes Hormon.

Die Unterschiede in dem Verhalten der Hypophysen von kastrierten und uteruslosen Tieren deuten darauf hin, daß die Kastration tiefergreifende Veränderungen in der Hypophyse verursacht als die Entfernung des Uterus. Dies gilt für die Struktur und die Funktion. Während beim kastrierten Tier der Gehalt der Hypophyse an gonadotropem und thyreotropem Hormon zunimmt, ändert sich beim uteruslosen Tier nur die Menge des thyreotropen Hormons. Daraus folgt, daß in der Hypophyse von uteruslosen Tieren offenbar Zustände der normalen und gesteigerten Funktion

[46] Grumbrecht u. Loeser: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **189**, 368 (1938).

nebeneinander bestehen. Auf die Möglichkeit einer solchen „Dissoziation der Funktionen" des Hypophysenvorderlappens hat bereits Berblinger[47] hingewiesen. Nach seiner Vorstellung sollen die einzelnen Partialfunktionen der Hypophyse an die verschiedenen Zellelemente gebunden sein. „Die Vermehrung einer Zellart (Epithelien) kann sehr wohl mit dem zahlenmäßigen Rückgang einer anderen einhergehen, also partielle Hyperfunktion neben partieller Hypofunktion." Nimmt man mit Berblinger[48] als Bildungsort für das thyreotrope Hormon die eosinophilen Epithelien an, dann wäre es denkbar, daß zwischen dem Mehrgehalt der Hypophyse an thyreotropem Hormon und dem vermehrten Auftreten von eosinophilen Zellen in den Hypophysen der Tiere von Gruppe V ursächliche Beziehungen bestehen.

Das Ausbleiben eines verminderten oder vermehrten Gehaltes der Hypophyse an gonadotropen Wirkstoffen bei gleichzeitiger Änderung der Funktion des Ovariums im Sinne einer Aktivitätssteigerung (vermehrtes Auftreten von Corpora lutea) zeigt, daß die Änderung der Funktion nicht durch eine veränderte Tätigkeit der Hypophyse bedingt ist. Die eingangs erwähnten Veränderungen der Schilddrüsentätigkeit nach Totalexstirpation des Uterus sowie die Tatsache, daß Schilddrüsenstoffe die Reaktionsfähigkeit des Ovariums beeinflussen, lassen vielmehr daran denken, daß bei uteruslosen Tieren zwischen dem Auftreten der Schilddrüsenveränderungen und der veränderten Funktion des Ovariums ursächliche Beziehungen bestehen. Derartige Beziehungen ergeben sich aus der Untersuchung der Schilddrüse.

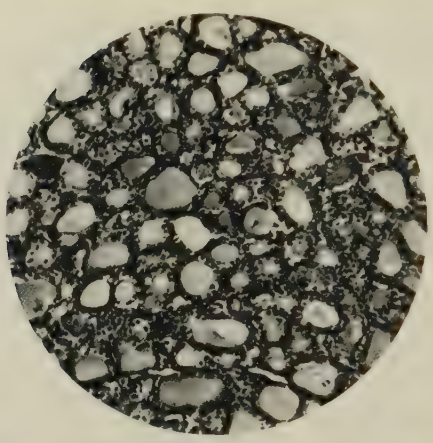
2. Der Einfluß auf die Struktur und die Funktion der Schilddrüse.

Schon auf Grund der Tatsachen, daß der Gehalt an thyreotropem Hormon in der Hypophyse von uteruslosen Tieren vermehrt ist, ist zu erwarten, daß auch die Schilddrüse die Zeichen einer erhöhten Tätigkeit aufweist. Dies ist tatsächlich der Fall. Wie wir bereits ausführten, zeigt die Schilddrüse von Ratten 14 Tage nach Totalexstirpation des Uterus dieselben strukturellen Veränderungen, wie sie nach Entfernung der Ovarien auftreten, d. h. die aktive Schilddrüse wird im Sinne einer Aktivitätsverminderung (Ruhedrüse) verändert. Diese Veränderungen bleiben jedoch nicht bestehen, sondern bilden sich wieder zurück. Die ersten anatomischen Zeichen der Rückbildung der Drüse sind bereits am 28. Tage nach der Entfernung des Uterus zu erkennen. Sie werden um so deutlicher, je länger die Operation zurückliegt (Tabelle 10).

Die Reaktion der Schilddrüse auf die Entfernung des Uterus ist aus Abb. 4 zu ersehen. Es ist deutlich zu erkennen, daß sich die beschriebenen Veränderungen nicht nur wieder zur Norm zurückbilden, sondern daß

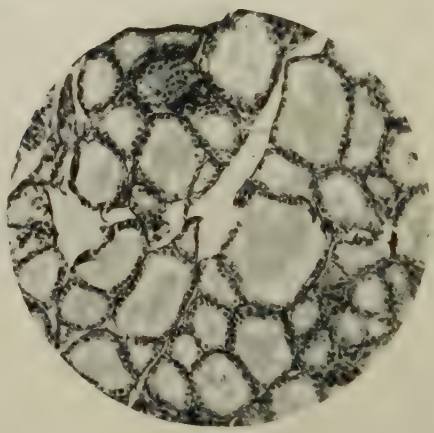
---

[47] Berblinger: Erg. Vitamin- u. Hormonforschung **1**, 209 (1938). — [48] Berblinger: Ebenda **1**, 210 (1938).

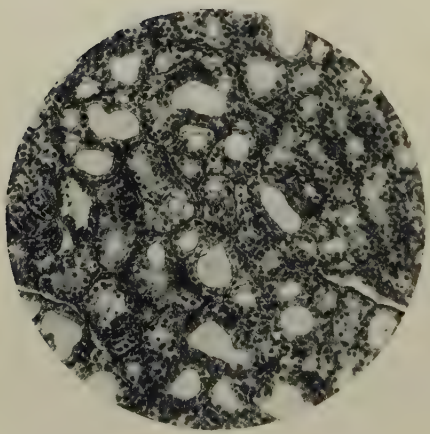


I.

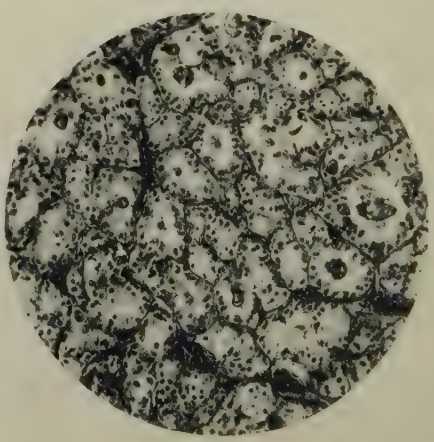
II.



III.



IV.



V.

Abb. 4. Der Einfluß der Totalexstirpation des Uterus auf die Struktur der Schilddrüse von Ratten. I. normale Schilddrüse. II. 14 Tage, III. 1 Monat, IV. 3 Monate, V. 7 Monate nach der Entfernung des Uterus. Färbung: Hämatoxylin-Eosin. Vergr. 80 fach.

sogar eine über die Norm hinausgehende Steigerung der Aktivität auftritt. Dies zeigt sich besonders bei den Tieren der Gruppe V. Im Vergleich zur

Tabelle 10. Der Einfluß der Entfernung des Uterus auf das Gewicht und die Struktur der Schilddrüse von Ratten.

Tier Nr.	Tiergewicht in g	Versuchszeit in Tagen nach Entfernung des Uterus	Gewicht der Schilddrüse in mg	Schilddrüsenbefund
1006	135	14		Kastratendrüse
1007	165	14		
1008	155	14		
1009	135	14		
1010	170	14		
1011	165	14		
1012	165	14		
1013	170	14		
1014	165	14		
1015	165	14		
1016	145	14		
1017	165	14		
1018	185	14		
1019	180	14		
1020	170	14		
1021	145	14		
1022	165	14		
1023	125	14		
1024	150	14		
1025	160	14		
1026	160	28		Kubisches Epithel, kolloidreich
1027	145	28		Kubisches Epithel, Kolloid z. T. resorbiert
1028	170	28		Starke Epithelerhöhung, Kolloid resorbiert
1029	180	28		Kubisches Epithel, kolloidreich
1030	195	28		Mittelhohes Epithel, kolloidreich
1031	210	28		Sehr starke Epithelwucherung, Kolloid vollständig resorbiert
1032	120	28		Hohes Epithel, kolloidreich
1033	145	28		Mittelhohes Epithel, kolloidreich
1034	195	28		Sehr starke Epithelwucherung, Kolloid vollständig resorbiert
1620	240	90	27	Normale Drüse
1621	240	90	32	Sehr aktive Drüse
1622	260	90	33	„ „ „
1623	235	90	25	Normale Drüse
1624	195	90	22	Kubisches Epithel, kolloidreich
1625	200	90	27	Normale Drüse
1626	190	90	30	Sehr aktive Drüse
1627	195	90	38	„ „ „
1628	220	90	29	Flaches Epithel, kolloidreich
1629	200	90	27	Normale Drüse
1630	255	90	30	Sehr aktive Drüse
1631	230	90	37	„ „ „
1632	240	90	31	Normale Drüse
1633	210	90	36	Sehr aktive Drüse
		Mittelwert:	30,3	

Tabelle 10 (Fortsetzung).

Tier Nr.	Tiergewicht in g	Versuchszeit in Tagen nach Entfernung des Uterus	Gewicht der Schilddrüse in mg	Schilddrüsenbefund
68	210	120	31	Sehr aktive Drüse
69	174	120	25	Normale Drüse
70	184	120	36	„ „
71	155	120	23,5	Sehr aktive Drüse
60	200	120	24	„ „ „
61	160	120	25	Normale Drüse
62	206	120	27	Sehr aktive Drüse
63	185	120	28	Normale Drüse
64	195	120	35	„ „
65	242	120	35	Sehr aktive Drüse
66	200	120	32	
67	180	120	29	
150	240	120	20	
151	200	120	25	
152	215	120	31	
153	180	120	26	Normale Drüse
		Mittelwert:	28,9	
1116	289	210	35	Sehr aktive Drüse
1118	170	210	32	
1119	240	210	56	
1110	220	210	86	
1111	190	210	46	
1112	170	210	38	
1114	180	210	68	
1100	270	210	82	
1101	205	210	60	
1102	225	210	70	
1103	220	210	83	
1105	215	210	48	
1106	210	210	77	
1071	190	210	60	
1072	210	210	34	Normale Drüse
1075	200	210	28	Sehr aktive Drüse
1076	195	210	26	Normale Drüse
1077	240	210	32	Sehr aktive Drüse
1078	200	210	58	
1079	230	210	60	
1065	195	210	32	
1067	185	210	35	Normale Drüse
1068	240	210	82	Normale Drüse
1069	200	210	56	
1061	210	210	32	
1062	190	210	39	
1063	200	210	44	Sehr aktive Drüse
1064	190	210	66	„ „ „
		Mittelwert:	52,3	

Anmerkung: Kastratendrüse = Flaches Epithel, vollständig mit Kolloid gefüllte Follikel. Normale Drüse = Hohes kubisches Epithel mit rundem mittelständigem Zellkern, wenig Kolloid. Sehr aktive Drüse = Hochzylindrisches Epithel, vollständiges Fehlen von Kolloid.

Tabelle 11. Der Einfluß der Uterusexstirpation auf den Stoffwechsel von Ratten*.

Tier	O_2-Verbrauch in ccm pro g/Stunde vor der Entfernung des Uterus				O_2-Verbrauch in ccm pro g/Stunde nach der Entfernung des Uterus																		
					Tag nach der Operation (Gruppe I)																		
Nr.	I	II	III	Mittelwert	6.	7.	8.	10.	14.	16.	20.	22.	24.	27.	29.	31.	35.	37.	60.	67.	73.	79.	85.	100.	106.
60	1,76	1,80	1,72	1,76	1,63	1,67	1,53	1,20	1,42	1,39	1,44	1,70	1,64	1,41	1,62	1,40	1,32	—	1,76	1,60	1,59	1,39	1,56	1,71	1,67
61	1,76	1,78	1,88	1,80	1,68	1,75	1,69	1,69	1,49	1,40	1,71	1,99	2,07	1,48	1,56	1,82	1,14	1,52	1,80	1,95	1,53	1,66	1,69	1,60	1,41
62	1,87	1,95	1,95	1,92	2,05	1,96	1,89	1,65	1,65	1,69	1,86	1,94	2,19	1,60	1,53	1,58	1,28	1,44	1,78	1,65	1,61	1,60	1,85	1,78	1,40
63	1,93	1,95	2,05	1,94	1,97	1,77	1,59	—	1,48	1,30	1,61	1,73	1,75	1,32	1,23	1,29	1,12	1,20	1,96	1,83	1,52	1,54	1,56	1,36	1,31
					Tag nach der Operation (Gruppe II)																		
					6.	7.	10.	14.	15.	18.	20.	22.	24.	27.	29.	31.	35.	37.	60.	67.	73.	79.	86.	100.	106.
64	1,40	1,48	1,53	1,47	1,37	1,39	1,17	1,40	1,60	1,26	1,70	1,78	1,19	1,47	1,53	1,63	1,37	1,66	1,73	1,32	1,43	1,28	1,25	1,56	1,32
65	1,52	1,60	1,68	1,60	1,72	1,41	1,27	1,40	1,51	1,12	1,52	1,47	1,13	1,31	1,23	1,40	1,18	—	1,68	1,39	1,20	1,34	1,55	1,55	1,35
66	1,55	1,52	1,52	1,53	1,53	1,34	1,38	1,27	1,48	1,18	1,92	1,53	1,15	1,32	1,36	1,32	1,10	1,49	1,49	1,34	1,61	1,36	1,49	1,47	1,58
67	1,37	1,48	1,46	1,43	1,55	1,42	1,50	1,28	1,57	1,13	1,73	1,91	1,39	1,39	1,23	1,52	1,22	1,33	1,58	1,11	1,31	1,49	1,37	1,39	1,27
					Tag nach der Operation (Gruppe III)																		
					7.	8.	11.	14.	16.	20.	22.	24.	27.	29.	31.	35.	37.	60.	67.	73.	80.	85.	100.	106.	
68	1,34	1,33	1,35	1,34	1,49	1,32	1,13	1,05	1,21	1,29	1,44	1,25	1,53	1,53	1,43	1,25	1,45	1,28	1,28	1,41	1,31	1,42	1,37	1,28	
69	1,59	1,55	1,65	1,60	1,71	1,38	1,55	1,24	1,12	1,54	1,55	1,67	1,60	1,64	1,54	1,59	—	1,60	1,80	1,76	1,61	1,60	1,55	1,42	
70	1,79	1,80	1,80	1,80	1,58	1,58	1,48	1,55	1,39	1,91	1,79	1,58	1,74	1,71	1,54	1,31	1,63	1,40	1,43	1,87	1,50	1,65	1,64	1,54	
71	1,47	1,54	1,47	1,49	1,58	1,54	1,56	1,20	1,35	1,81	1,74	1,65	1,60	1,62	1,58	1,75	1,70	1,86	1,74	2,07	—	1,54	1,66	1,45	

* Die Untersuchung des Stoffwechsels wurde von Herrn cand. med. K. Erbacher ausgeführt.

normalen Schilddrüse findet sich in diesen Drüsen ein hochzylindrisches Epithel mit schaumigem, kaum färbbaren Protoplasma. Das Lumen der Follikel ist durch papilläre Sprossung des Epithels eingeengt. Eosinophiles Kolloid fehlt vollständig. Dagegen finden sich in den Drüsenbläschen blaugefärbte, schollige Massen sowie abgestoßene Epithelien. Die ganze Drüse ist außerdem stark durchblutet.

Zur Entscheidung der Frage, ob den anatomischen Veränderungen in der Schilddrüse auch eine Minder- bzw. Mehrleistung der Drüse, d. h. eine verminderte oder vermehrte Abgabe von Schilddrüsenhormon entspricht, haben wir bei 12 der in Tabelle 10 aufgeführten Tiere (Nr. 60—71) während 3 Monate laufend den Sauerstoffverbrauch bestimmt. Wie aus Tabelle 11 und Abb. 5 hervorgeht, nimmt der Sauerstoffverbrauch mit der

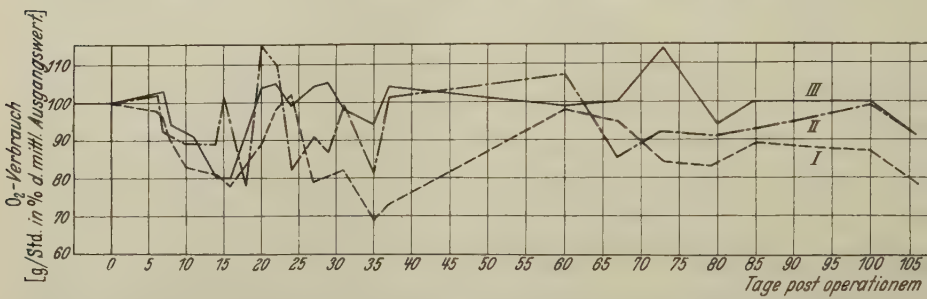


Abb. 5. Sauerstoffverbrauchswerte von uteruslosen Ratten in % des mittleren Ausgangswertes. Abszisse: Zeit in Tagen nach der Operation. Ordinate: O_2-Verbrauch pro g/Stunde in % des mittleren Ausgangswertes. Jede Kurve entspricht den Mittelwerten von 4 Tieren.

Ruhigstellung der Schilddrüse in den ersten Tagen nach der Operation ab. Diese Abnahme setzt bereits am 6. bzw. 7. Tage ein und erreicht zwischen dem 14. und 18. Tage post operat. den tiefsten Wert. Die Sauerstoffverbrauchszahlen liegen hier 20—22 % unter dem mittleren Ausgangswert. Mit den Rückbildungsvorgängen in der Schilddrüse zur Norm steigt auch der Sauerstoffverbrauch wieder an und kehrt, abgesehen von vorübergehenden Schwankungen, die wir als Ausdruck von einsetzenden Gegenregulationen deuten möchten, allmählich zur Norm zurück.

Es ist noch zu erwähnen, daß Tiere, bei denen wir nur eine Probelaparatomie vornahmen, keine Änderung des Stoffwechsels zeigten.

Aus allen Versuchen ergibt sich, daß die Entfernung des Uterus bei geschlechtsreifen Ratten nicht nur die Struktur der Schilddrüse verändert, sondern auch eine nachweisliche Änderung ihrer funktionellen Leistung bewirkt. Diese Feststellung sowie die Tatsache, daß Schilddrüsenstoffe die Ansprechbarkeit des Ovariums auf gonadotrope Wirkstoffe der Hypophyse ändern, bedeuten aber — und damit kommen wir wieder auf die Frage nach der Ursache für die Entstehung der anatomischen Veränderungen im Ovarium von uteruslosen Tieren zurück —, daß zwischen dem Auftreten der Schilddrüsenveränderungen und der veränderten Funktion des

Ovariums tatsächlich ursächliche Beziehungen bestehen: Die Beschleunigung der Wachstumsvorgänge im Ovarium und die dadurch bedingten Folgen für die Keimdrüsen werden durch Schilddrüsenstoffe verursacht, die auch hier die Empfindlichkeit des Ovariums für die gleichmäßig abgegebenen gonadotropen Wirkstoffe der Eigenhypophyse ändern.

Zusammenfassung.

Die Folgen der Entfernung des Uterus für die Beziehungen zwischen Ovarium, Hypophyse und Schilddrüse glauben wir nach unseren Versuchen folgendermaßen darstellen zu müssen:

Bekanntlich bestehen zwischen Hypophyse und Ovarium sowie umgekehrt zwischen Ovarium und Hypophyse Steuerungen, in die Ovarialhormone und gonadotrope Hormone eingreifen können. Dabei sind die gonadotropen Hormone die Übermittler von der Hypophyse zum Ovarium, die Ovarialhormone die Übermittler vom Ovarium zur Hypophyse.

Ähnliche Beziehungen lassen sich auch zwischen Ovarium und Schilddrüse nachweisen. Wir haben bereits erwähnt, daß schon 14 Tage nach Entfernung der Ovarien die Schilddrüse im Sinne der Ruhedrüse verändert wird: Die Follikel sind vergrößert, das Follikelepithel ist abgeflacht, das Follikellumen ist vollständig mit Kolloid ausgefüllt (Kastratendrüse). Dieselben Veränderungen finden sich nach Eröffnung der Ovarialkapsel, nach Unterbindung der Tuben oder nach Exstirpation des Uterus. Schon diese Feststellungen weisen darauf hin, daß die Umbildung der Schilddrüse zur Ruhedrüse (Kastratendrüse) nicht durch das Fehlen von Ovarialhormonen verursacht sein kann, denn Ovarialhormone stehen ja bei den zuletzt aufgeführten Tieren in genügenden Mengen zur Verfügung. Gestützt wird diese Auffassung durch die weitere Beobachtung, daß es beim kastrierten Tier selbst durch parenterale Zufuhr von Ovarialhormonen oder durch Transplantation von Ovarien nicht möglich ist, den Eintritt der beschriebenen Veränderungen aufzuhalten oder die bereits eingetretenen Veränderungen zum Verschwinden zu bringen. Die Rückbildung der strukturellen Umformungen in der Schilddrüse ist, wie wir eingangs ausführten, nur dann möglich, wenn Follikelhormon vom Uterus aus auf die Schilddrüse einwirkt. Nur dadurch erlangt es schilddrüsenwirksame Eigenschaften. Aus der Tatsache, daß die normale Schilddrüse nach intrauteriner Injektion von Follikelhormon ebenfalls aktiviert wird, folgt, daß beim normalen Tier mit jedem Übertritt von Follikelhormon aus dem gesprungenen Follikel in den Uterus auch jedesmal eine Anregung der Schilddrüsentätigkeit verbunden ist, d. h. in Abhängigkeit vom Cyclus des Ovariums treten auch in der Schilddrüse periodische Veränderungen auf. Da nachgewiesen ist, daß Schilddrüsenstoffe ihrerseits auf die Ovarialtätigkeit einwirken, ergibt sich die Vorstellung, daß zwischen Ovarium und Schilddrüse sowie umgekehrt zwischen Schilddrüse und

Ovarium ebenfalls Steuerungen bestehen. Dabei ist das Follikelhormon auf dem Wege über den Uterus der Übermittler vom Ovarium zur Schilddrüse, während die rückläufige Beziehung von der Schilddrüse zum Ovarium durch Schilddrüsenstoffe erfolgt.

In der periodischen Anregung der Schilddrüsentätigkeit durch Follikelhormon erblicken wir eine Art Selbststeuerung des Ovariums durch seine eigenen Hormone, wobei den Schilddrüsenstoffen die Aufgabe zufällt, die Ansprechbarkeit des Ovariums für die gonadotropen Wirkstoffe der Hypophyse zu regulieren. Ovarium, Uterus und Schilddrüse bilden also eine Funktionseinheit.

Wird diese Funktionseinheit durch Entfernung des Uterus unterbrochen, dann fällt die physiologische, d. h. anregende Wirkung des Follikelhormons auf die Schilddrüse fort, und die Schilddrüse zeigt zunächst das Bild der Ruhedrüse. In Abhängigkeit von der veränderten Tätigkeit der Schilddrüse ändert sich die Ansprechbarkeit des Ovariums, d. h. die Reizschwelle des Ovariums für die gonadotropen Wirkstoffe der Hypophyse wird herabgesetzt. Infolgedessen wird die normalerweise von der Hypophyse sezernierte Menge gonadotroper Hormone unterschwellig, so daß das Ovarium seine Tätigkeit einschränkt. Wie aus dem Verhalten der Brunsterscheinungen und dem anatomischen Bild des Ovariums 14—28 Tage nach Entfernung des Uterus hervorgeht, äußert sich die herabgesetzte Funktion des Ovariums in einer verminderten Eireifung. Es fehlen zu dieser Zeit große sprungreife Follikel, ebenso bleibt die Brunst aus. Dieses Ausbleiben ist keine Folge der Operation, denn eine Scheinoperation (Probelaparatomie) allein ändert den rhythmischen Ablauf der Brunst nicht.

Die Reaktion des Organismus auf die herabgesetzte Funktion des Ovariums besteht nicht, wie man erwarten sollte, in einer gesteigerten Produktion von gonadotropem Hormon, sondern der Organismus gleicht die verminderte Ansprechbarkeit des Ovariums auf gonadotrope Reize wieder auf dem Wege über die Schilddrüse aus: Die herabgesetzte Funktion der Schilddrüse wird durch eine Steigerung der Produktion von thyreotropem Hormon rückgängig gemacht. Dadurch wird auch die verminderte Ansprechbarkeit des Ovariums wieder aufgehoben. Der sichtbare Ausdruck hierfür ist das Wiederauftreten von Brunsterscheinungen und im Ovarium die Entwicklung von sprungreifen Graafschen Bläschen.

Trotz dieses Kompensationsvorganges werden die physiologischen Verhältnisse nicht wieder hergestellt. Während Schilddrüsenstoffe unter physiologischen Bedingungen vermehrt nur nach jedem Follikelsprung, d. h. periodisch auf das Ovarium einwirken, fällt diese periodische Einwirkung beim uteruslosen Tier fort: Das Ovarium uterusloser Tiere steht dauernd unter dem Einfluß von Schilddrüsenstoffen, wobei die Intensität dieses Einflusses von Tier zu Tier verschieden ist. In dieser Feststellung liegt auch die Erklärung für die beschleunigten und ungeordneten Wachs-

tumsvorgänge im Ovarium, die zu einem schnelleren Aufbrauchen der Primordialfollikel und, wie von anderer Seite[49] gezeigt werden konnte, schließlich sogar zu einer Atrophie der Keimdrüse führen. Der Zeitpunkt des Auftretens der Atrophie ist verschieden und abhängig von der physiologischen Leistungsfähigkeit des Ovariums. Die Atrophie kann bis zu ihrer vollständigen Ausbildung viele Monate benötigen. Immer aber tritt sie vorzeitiger auf als die physiologische senile Atrophie.

Weiterhin zeigen die Versuche, daß der Gehalt der Hypophyse an thyreotropem Hormon während der Versuchsdauer zunimmt. In Abhängigkeit davon wird auch die Aktivität der Schilddrüse über die Norm gesteigert. Diese Steigerung ist vermutlich ein Anpassungsvorgang des Organismus, um die nach Unterbrechung des Weges Ovarium-Uterus-Schilddrüse abgesunkene Tätigkeit der Schilddrüse wieder auszugleichen. Der Ausgleich ist offenbar an eine funktionstüchtige Hypophyse gebunden, denn er fehlt beim kastrierten Tier. Die Hypophyse des Kastraten[50] ist infolge des Fehlens von Follikelhormon minderwertig, d. h. nur beschränkt reaktionsfähig.

Obwohl der Gehalt der Hypophyse an thyreotropem Hormon und die damit verbundene Aktivitätssteigerung der Schilddrüse mit ihren Folgen für das Ovarium stetig zunehmen, sind gröbere thyreotoxische Erscheinungen, wie man eigentlich erwarten sollte, nicht beobachtet worden. Der Grund hierfür liegt vielleicht darin, daß die anpassungsfähige Hypophyse des uteruslosen Tieres bei zunehmender Erschöpfung des Ovariums allmählich in die minderwertige Kastratenhypophyse umgewandelt wird.

IV. Die Bedeutung des Uterus für den normalen Ablauf der Ovarialfunktionen.

Auf Grund zahlreicher Untersuchungen hat sich, wie wir bereits erwähnten, die heute allgemein anerkannte Vorstellung gebildet, daß zwischen Hypophyse und Ovarium, sowie umgekehrt zwischen Ovarium und Hypophyse Steuerungen bestehen, an denen sowohl Ovarialhormone als auch Hypophysenhormone beteiligt sind. Dabei sind die gonadotropen Wirkstoffe die Übermittler von der Hypophyse zum Ovarium, die Ovarialhormone hingegen die Übermittler vom Ovarium zur Hypophyse.

Mit Hilfe dieser Vorstellung wird auch versucht, die cyclischen Vorgänge im Ovarium, wie sie während der Geschlechtsreife auftreten, zu erklären. Man nimmt nämlich fast allgemein an, daß der Hypophysenvorderlappen die gonadotropen Wirkstoffe periodisch absondert und durch diesen periodischen Wechsel die rhythmische Tätigkeit des Ovariums bestimmt. Die Frage, ob die Hypophyse einen eigenen Cyclus hat, oder

---

[49] Hauptstein u. Bühler: Arch. Gynäk. **162**, 6 (1936); Tonkes: Zbl. Gynäk. **1936**, S. 36; Jakobsohn: Ebenda **1914**, S. 1014. — [50] Grumbrecht u. Loeser: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **189**, 345 (1938).

ob dieser Cyclus erst rückläufig durch die periodischen Vorgänge im Ovarium ausgelöst wird, wird dabei verschieden beantwortet[51].

Es ist hier nicht der Ort, auf diese Frage näher einzugehen. Nimmt man überhaupt cyclische Änderungen in der Hypophyse an, dann muß erwartet werden, daß sich diese Änderungen als Zu- oder Abnahme des Gehaltes der Hypophyse an gonadotropen Wirkstoffen nachweisen lassen. Obwohl derartige Schwankungen im Hormongehalt der Hypophyse während der verschiedenen Phasen der Brunst angegeben worden sind[52], ist es uns in eigenen Versuchen nie gelungen, sichere Unterschiede zu finden. Diese Gegensätzlichkeit der Ergebnisse ist auch hier vermutlich wieder auf die größere Genauigkeit der Auswertung von Hypophysen ganzer Tiergruppen gegenüber dem Transplantationseffekt von einzelnen Hypophysen zurückzuführen. Auf die Ungenauigkeit der Einzelauswertung weist allein schon die Angabe hin, daß die Transplantationswirkung von je $1^1{}_2$ Hypophysen miteinander verglichen wurde.

Tabelle 12. Wertbestimmung von gonadotropem Hormon in Hypophysen von normalen Ratten während der verschiedenen Phasen der Brunst.

Stadium der Brunst	Zahl der Tiere	Tiergewicht in g	Durchschnittsgewicht der Hypophyse in mg		Gonadotropes Hormon		Oestrus
			der frischen	der getrockneten	Dosis in mg Trockenhypophyse	Ovarieller Wirkungsgrad	
Dioestrus	30	170—210	9,6	1,83	6×0,2—0,4	I + III	+
Oestrus . .	29	180—240	11,5	2,24	6×0,2—0,4	I + III	+

Die Annahme einer cyclischen Tätigkeit der Hypophyse versucht man auch noch durch andere Beobachtungen zu stützen. So wird auf Grund der Tatsache, daß länger dauernde parenterale Zufuhr von Follikelhormon den Gehalt der Hypophyse an gonadotropen Wirkstoffen herabsetzt[53], geschlossen, daß auch jede Verminderung bzw. jede Vermehrung von Follikelhormon im Ovarium ebenfalls entsprechende Änderungen im Hormongehalt der Hypophyse verursacht, d. h. die Rhythmik der Hypophysentätigkeit wird rückläufig durch Schwankungen des Follikelhormongehaltes im Ovarium bedingt. Bei der Übertragung dieser Vorstellung auf physiologische Verhältnisse ergibt sich jedoch eine große Schwierigkeit: Gerade in der Zeit, in welcher der herangereifte Follikel unter dem Einfluß von Hypophysenhormonen sich zum sprungreifen Graafschen Bläschen ausbilden soll, würde das in den Follikeln enthaltene Follikelhormon der Absonderung von gonadotropen Wirkstoffen entgegenarbeiten. Um diese Schwierigkeit zu überbrücken, hat man folgende Hilfsannahme gemacht.

[51] Literatur siehe Clauberg: Innere Sekretion der Ovarien und der Plazenta, Zwanglose Abhandlungen aus dem Gebiete der Inneren Sekretion, Bd. 2, S. 60. Leipzig, J. A. Barth, 1937. — [52] Ebenda, S. 60. — [53] Literatur siehe Clauberg: l. c. S. 61/62; Hohlweg u. Dohrn: Wien. Arch. inn. Med. **21**, 3 (1931).

Aus den Untersuchungen von Hohlweg, Clauberg, Desklin, Fevold, Hisaw und Greep, Wolfe, Bachmann, Selye, Collip und Thompson u. a.[54] ist bekannt, daß nach einer einmaligen Injektion von sehr großen Mengen Follikelhormon, im Ovarium von infantilen und geschlechtsreifen Tieren Corpora lutea auftreten. Ihre Bildung soll dadurch zustande kommen, daß die einmalige plötzliche Zufuhr einer größeren Dosis Follikelhormon „die gonadotrope Funktion des Hypophysenvorderlappens zur einmaligen akuten Ausschüttung“[55] anregt. Da die Wirkung von Follikelhormon auf die Hypophyse reversibel ist, soll sich die Hypophyse nach Abklingen der Follikelhormonwirkung wieder erholen und „entweder allmählich oder plötzlich gonadotropes, ovariumstimulierendes Hormon auszuschütten“[56] beginnen.

Hohlweg und Junkmann[57] nehmen an, daß Follikelhormon nicht unmittelbar auf die Hypophyse einwirkt, sondern die Hypophyse erst auf dem Wege über ein nervöses Zentrum (Sexualzentrum) beeinflußt. Dadurch soll die Tätigkeit der Hypophyse qualitativ verändert werden, d. h. Follikelhormon bewirkt eine Umsteuerung des Hypophysenvorderlappens auf die Produktion von luteogenem Hormon, das jetzt seinerseits die vorgebildeten Follikel in Corpora lutea umwandelt.

Wir identifizieren für gewöhnlich die Wirkung von Follikelhormon, die wir im Injektions- oder Fütterungsversuch sehen, mit der Wirkung des vom Ovarium abgegebenen Follikelhormons, wozu wir nicht ohne weiteres berechtigt sind. Die Unzulänglichkeit einer solchen Auffassung geht u. a. aus folgenden Überlegungen hervor:

Vergleicht man beispielsweise die Wirkungen des Follikelhormons nach intrauteriner Zufuhr mit den Veränderungen, die nach parenteraler Injektion von Follikelhormon im Organismus auftreten, dann ergeben sich grundsätzliche Unterschiede[58]: Auf die Wachstumsvorgänge im Uterus selbst ist die Wirkung hinsichtlich der Qualität gleich. Zwischen Dosis, Reaktionsgeschwindigkeit und Wirkungsdauer von intrauterin und parenteral zugeführten oestrogenen Substanzen bestehen jedoch quantitative Unterschiede. Intrauterin injiziert, regt Follikelhormon bereits in Mengen, die parenteral unwirksam sind, die Wachstumsvorgänge im Uterus an. Weitere Unterschiede finden sich hinsichtlich der Fernwirkungen des Follikelhormons. Während der Gehalt der Hypophyse an gonadotropen Substanzen nach parenteraler Injektion von großen Mengen Follikelhormon erheblich herabgesetzt wird, bleibt er nach intrauteriner Zufuhr unverändert. Intrauterin injiziert, verändert Follikelhormon die

---

[54] Literatur siehe Clauberg: l. c. S. 63. — [55] Clauberg: l. c. S. 63. — [56] Clauberg: l. c. S. 64. — [57] Hohlweg u. Junkmann: Klin. Wschr. **1932**, S. 321; Herold u. Effkemann: Arch. Gynäk. **167**, 389 (1938); Hohlweg: Klin. Wschr. **1936**, S. 1832. — [58] Grumbrecht u. Loeser: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **189**, 345 (1938).

Struktur der Schilddrüse im Sinne einer Aktivitätssteigerung, parenteral (subc., i. m., i. p.) zugeführt, bleibt die Aktivitätssteigerung aus.

Unter physiologischen Bedingungen wird Follikelhormon bei der Ratte auf zwei verschiedenen Wegen[59] vom Ovarium abgesondert: 1. auf dem Lymph-Blutwege und 2. unter Umgehung des Lymphblutweges direkt in die Ovarialkapsel und von dort aus über die Tube in den Uterus.

Das unmittelbar in das Blut übertretende Follikelhormon stammt, wie wir in Übereinstimmung mit Clauberg[60] annehmen, aus den zahllosen Follikeln, die nicht zur Reife gelangen, sondern andauernd vorzeitig zugrunde gehen, d. h. atresieren. Diese fortwährende Abgabe von Follikelhormon in das Blut, die während der ganzen Geschlechtsreife nie aufhört, garantiert die Aufrechterhaltung einer bestimmten Reaktionsbereitschaft (Tonus) des gesamten Genitalapparates und verursacht weiterhin das dauernde Vorhandensein von Hormon im Blut (Hormonspiegel). Dieser Gehalt des Blutes an Follikelhormon gewährt außerdem den Bestand des hormonalen Gleichgewichtes gegenüber anderen innersekretorischen Organen.

Das unter Umgehung des Lymph-Blutweges über die Tube in den Uterus gelangte Follikelhormon stammt aus dem gesprungenen Follikel, denn bei der Ratte ist durch Ausbildung einer besonderen Ovarialkapsel eine andere Abflußmöglichkeit für die Follikelflüssigkeit aus dem gesprungenen Follikel nicht möglich. Die Ovarialkapsel selbst resorbiert Follikelhormon nicht. Das mit dem Follikelsprung frei gewordene Follikelhormon trifft im Uterus auf eine schon durch das im Blut kreisende Follikelhormon vorbereitete, reaktionsfähige Schleimhaut, die jetzt durch die zusätzliche Hormonmenge den stärksten Grad ihres proliferativen Aufbaus erfährt. Damit sind gleichzeitig die besten Vorbedingungen für die jetzt sich unmittelbar anschließende Corpus luteum-Phase gegeben.

Mit dem Aufbau der Schleimhaut ist die Wirkung des Follikelhormons nicht erschöpft. Wie wir früher[61] gezeigt haben, erlangt das in den Uterus übergetretene Follikelhormon im Uterus schilddrüsenwirksame Eigenschaften. Dadurch wird die Tätigkeit der Schilddrüse angeregt, d. h. Schilddrüsenstoffe werden vermehrt abgegeben. Diese Schilddrüsenstoffe wirken auf das Ovarium zurück und greifen hier in den Ablauf der Eireifungsvorgänge ein.

Die Frage nach dem Sinn der periodischen Anregung der Schilddrüsentätigkeit durch das bei jedem Follikelsprung in den Uterus übertretende Follikelhormon für das Ovarium ist gleichbedeutend mit der Frage nach der Wirkung von Schilddrüsenstoffen auf das Ovarium. Wie wir gezeigt haben, ändern Schilddrüsenstoffe die Ansprechbarkeit des Ovariums auf gonadotrope Wirkstoffe der Hypophyse, d. h. eine unwirksame

---

[59] Grumbrecht u. Loeser: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **189**, 376 (1938). — [60] Clauberg: l. c. S. 31. — [61] Grumbrecht u. Loeser: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **189**, 376 (1938).

Dosis gonadotroper Substanzen wird nach zusätzlicher Zufuhr von Schilddrüsenstoffen wirksam. Diese Feststellung sowie die Abhängigkeit der Schilddrüsenveränderungen vom Follikelsprung führen zu der Vorstellung, daß zwischen der Anregung der Schilddrüsentätigkeit und der Tätigkeit des Ovariums ursächliche Beziehungen bestehen:

Beim Sprung des reifen Follikels gelangt mit dem Ei und der Follikelflüssigkeit Follikelhormon in den Uterus. Von hier aus wird dann die Tätigkeit der Schilddrüse angeregt. Die Folge davon ist, daß die Schilddrüse vermehrt Schilddrüsenstoffe abgibt. Diese zusätzlich frei werdenden Schilddrüsenstoffe wirken ihrerseits auf das Ovarium und stellen hier die Ansprechbarkeit des Ovariums auf gonadotrope Wirkstoffe wieder her, die unter dem Einfluß des sich inzwischen gebildeten Corpus luteum vorübergehend abgesunken war. Die Folge davon ist die Entwicklung und das Ausreifen neuer Follikel zu sprungreifen Graafschen Bläschen. Aus allem folgt, daß die Schilddrüse neben der Hypophyse an dem geregelten Ablauf der Ovarialfunktionen bestimmend mitwirkt.

Diese Vorstellung bedeutet: Die cyclischen Vorgänge im Ovarium werden nicht durch cyclische Änderungen des Hormongehalts in der Hypophyse verursacht, sondern das Ovarium bestimmt seinen Cyclus selbst. Diese Selbststeuerung erfolgt durch Follikelhormon, das auf dem Wege über den Uterus nach jedem Follikelsprung die Schilddrüse anregt und durch Vermittlung von Schilddrüsenstoffen den Einfluß der gonadotropen Hormone der Hypophyse auf das Ovarium regelt. Mit anderen Worten: Die von der Hypophyse abgegebenen Hormonmengen bleiben unter physiologischen Bedingungen während der cyclischen Vorgänge im Ovarium gleich, geändert wird nur die Ansprechbarkeit des Ovariums auf diese Hormone.

Durch die Tatsache, daß die Anregung der Schilddrüsentätigkeit durch Follikelhormon unter physiologischen Bedingungen nur auf dem Wege über den Uterus möglich ist, findet gleichzeitig auch die Frage nach der Bedeutung des Uterus für den normalen Ablauf der Ovarialfunktionen ihre zwanglose Erklärung: Der Uterus reguliert die cyclische Tätigkeit des Ovariums: Denn, um über die Schilddrüse auf das Ovarium einwirken zu können, muß Follikelhormon den Uterus passieren. Erst durch diese Passage erlangt es schilddrüsenwirksame Eigenschaften. Follikelhormon als solches regt die Tätigkeit der Schilddrüse ebensowenig an, wie etwa die Transplantation von Uterusgewebe. Die Auslösung des Schilddrüseneffektes erfordert das Zusammenwirken von beiden. Dies ergibt sich aus folgenden Versuchen.

1. Die Wirkung von Uterusgewebe auf das Ovarium der infantilen Ratte.

Um den Einfluß der Transplantation von Uterusgewebe auf die Struktur und die Funktion des Ovariums kennenzulernen, haben wir Uterusgewebe von geschlechtsreifen Ratten unter die Rückenhaut von infantilen

Ratten transplantiert. Dabei wurde jedem Tier ein ganzer, vorher zerkleinerter Uterus überpflanzt. Während der Versuchsdauer prüften wir täglich den Scheidenabstrich. Am 8. Tage nach der Transplantation wurden die Tiere getötet und Uterus, Ovarium und Schilddrüse histologisch untersucht.

Tabelle 13. Der Einfluß der Uterustransplantation auf die Struktur und die Funktion des Ovariums von normalen infantilen Ratten.

Nr. des Spenders	Testtier (infantile Ratte)					
	Tier Nr.	Tiergewicht in g	Organgewicht in mg		Histologischer Befund	
			Ovarium	Uterus	Ovarium	Scheidenabstrich
1140	1140a	70	17	37	Infantiles Organ	Negativ
1141	1141a	60	19	27	„ „	
1142	1142a	65	22	19		
1143	1143a	70	18	27		
1144	1144a	50	19	19	Mittlere Eireifung	
1145	1145a	75	17	35		
1146	1146a	60	21	31	Infantiles Organ	
1147	1147a	60	18	27	„ „	
1148	1148a	50	18	21	Starke Eireifung	
1149	1149a	80	28	38	„ „	

Wie Tabelle 13 zeigt, ließen sich in den Ovarien keine Veränderungen erkennen, die auf eine Anregung der Keimdrüsentätigkeit hinweisen. Das histologische Bild entsprach in allen Fällen dem des Alters und des Gewichts der Tiere. Der Uterus war infantil, der Scheidenabstrich negativ. Auch die Schilddrüse bot keine Besonderheiten.

Über den Einfluß der Transplantation von Uterusgewebe auf das künstlich angeregte Ovarium gibt Tabelle 14 Aufschluß. In diesen Versuchen wurde Uterusgewebe von 65 geschlechtsreifen Ratten unter die Rückenhaut von 65 infantilen Ratten implantiert. Wie in früheren Versuchen benutzten wir zur Anregung des Ovariums Acetontrockenpulver aus Schafshypophysen. Die Dosis war so gewählt, daß eben beginnende Follikelreifung auftrat (Gesamtmenge: 45 mg, verteilt auf 2 Tage; 1. Tag 15 mg, 2. Tag 30 mg i. p.). Die Tiere waren in zwei Gruppen eingeteilt. Gruppe I wurde das Acetontrockenpulver (in Kochsalzlösung aufgeschwemmt) am 1. und 2. Tage, Gruppe II am 4. und 5. Tage nach der Transplantation injiziert. 100 Stunden nach der ersten Injektion wurden die Tiere getötet und Ovarium, Uterus und Schilddrüse histologisch untersucht.

Zum Unterschied von den Ovarien der in Tabelle 13 aufgeführten Tiere, fanden wir in diesen Versuchen bei 34% der Ratten Corpora lutea in den Ovarien. Die Schilddrüsen zeigten bei den Tieren, in deren Ovarien Corpora lutea nachzuweisen waren, deutliche Zeichen der Aktivitätssteigerung. Eine Abhängigkeit der beobachteten Veränderungen vom

Funktionszustand des Uterus (Dioestrus, Prooestrus, Oestrus, Metoestrus) konnten wir nicht feststellen.

Die Versuche zeigen, daß eine an sich unwirksame Menge von zusätzlich zugeführten gonadotropen Wirkstoffen nach Transplantation von Uterusgewebe wirksam wird, d. h. bei 34 % der Tiere Auftreten von Corpora lutea verursacht. Ihre Bildung möchten wir auf die Anwesenheit von Follikelhormon oder von bereits umgewandeltem Follikelhormon im Uterustransplantat zurückführen. Wie aus den nachstehenden Untersuchungen hervorgeht, erlangt nämlich Follikelhormon auch bei Berührung mit isoliertem Uterusgewebe schilddrüsenwirksame Eigenschaften und ändert hierdurch die Reaktionsfähigkeit des Ovariums auf die zusätzlich zugeführten gonadotropen Wirkstoffe der Hypophyse.

2. Die Wirkung von Follikelhormon und Uterusgewebe auf das Ovarium der infantilen Ratte.

Die Vermutung, daß das Auftreten von Corpora lutea auf die Anwesenheit von Follikelhormon im Uterustransplantat zurückzuführen ist — im Uterus von Ratten ist Follikelhormon nachgewiesen worden [62] — wird durch folgende Versuche sichergestellt:

Uterusgewebe von 22 geschlechtsreifen Ratten wurde unter die Rückenhaut von 22 infantilen Ratten implantiert. Das Uterusgewebe wurde dabei vorher zerstückelt und in einer Reibschale verrieben. Unmittelbar nach der Implantation injizierten wir in diesen Gewebebrei 50 i. B. E.* Oestradiolmonobenzoat, das in Öl gelöst war. Am 3. und 4. Tage nach der Injektion erhielten die Tiere zur Anregung der Keimdrüsentätigkeit intraperitoneal 15 mg bzw. 30 mg Acetontrockenpulver (in Kochsalzlösung aufgeschwemmt). 100 Stunden nach der 1. Injektion des Hypophysenpulvers wurden die Ratten getötet und Ovarium und Schilddrüse histologisch untersucht.

Das Ergebnis der Versuche ist eindeutig. Nach Implantation von Uterusgewebe ohne Zusatz von Follikelhormon fanden sich nur bei 34 % der Tiere Corpora lutea (Tabelle 14). Nach Implantation von Uterusgewebe mit Zusatz von Follikelhormon treten dagegen bei 91 % der Tiere Corpora lutea in den Ovarien auf (Tabelle 15). Diese Bildung von Corpora lutea ist auch hier wieder darauf zurückzuführen, daß Follikelhormon nach Berührung mit Uterusgewebe schilddrüsenwirksame Eigenschaften erlangt und dadurch die Tätigkeit der Schilddrüse anregt. Dabei werden Schilddrüsenstoffe vermehrt frei, die jetzt die Ansprechbarkeit des Ovariums auf die zusätzlich zugeführten gonadotropen Wirkstoffe der Hypophyse erhöhen.

Daß Follikelhormon in Berührung mit Uterusgewebe die Schilddrüse tatsächlich anregt, zeigt der Versuch:

Implantiert man infantilen Meerschweinchen Uterusgewebe, das in der oben erwähnten Weise zerkleinert war, unter die Rückenhaut und injiziert in das Im-

* Internationale Benzoateinheiten.

[62] Hauptstein u. Bühler: l. c.

Tabelle 14. Der Einfluß der Uterustransplantation auf die Reaktionsfähigkeit des Ovariums normaler infantiler Ratten auf Hypophysenvorderlappenpulver (Gesamtmenge: 45 mg).

Tier Nr.	Spender: Scheidenabstrich: Di-oestrus	Pro-oestrus	Oestrus	Met-oestrus	Testtier (infantile Ratte): Tier Nr.	Tiergewicht in g	Organgewicht in mg: Ovarium	Uterus	Histologischer Befund des Ovariums
Gruppe I. Injektion des Hypophysenvorderlappenpulvers am 1. und 2. Tage nach der Transplantation.									
1060			+		1060 a	75	18	59	Corpus luteum
1061				+	1061 a	50	17	28	„ „
1062	+				1062 a	55	24	42	„ „
1063	+				1063 a	50	17	33	Starke Eireifung
1064			+		1064 a	45	36	21	„ „
1065	+				1065 a	45	18	44	Corpus luteum
1066		+			1066 a	50	14	34	„ „
1067		+			1067 a	55	17	29	Starke Eireifung
1068			+		1068 a	40	17	27	„ „
1069		+			1069 a	35	20	20	Geringe Eireifung
1070		+			1070 a	60	13	29	Corpus luteum
1072				+	1072 a	55	17	27	Geringe Eireifung
1073	+				1073 a	40	13	17	„ „
1074	+				1074 a	55	16	29	„ „
1075	+				1075 a	35	16	26	Corpus luteum
1076		+			1076 a	45	16	23	Starke Eireifung
1077	+				1077 a	35	12	21	Corpus luteum
1078	+				1078 a	35	12	20	Geringe Eireifung
1079		+			1079 a	60	15	26	Starke Eireifung
1080			+		1080 a	40	10	17	„ „
1081				+	1081 a	45	18	29	Corpus luteum
1082				+	1082 a	40	12	20	Geringe Eireifung
1083	+				1083 a	45	17	27	„ „
1084	+				1084 a	40	12	22	Corpus luteum
1085			+		1085 a	40	14	27	„ „
1086			+		1086 a	45	16	29	„ „
1087	+				1087 a	40	13	24	Geringe Eireifung
1088			+		1088 a	50	12	27	Starke Eireifung
1089	+				1089 a	40	14	28	„ „
1090		+			1090 a	40	11	22	„ „
1091		+			1091 a	55	19	21	Sehr starke Eireifung
1092	+				1092 a	50	19	20	„ „ „
1093	+				1093 a	40	14	19	„ „ „
1094	+				1094 a	40	11	23	Corpus luteum
1095	+				1095 a	45	13	21	Starke Eireifung
1096	+				1096 a	45	19	25	„ „
1097				+	1097 a	55	15	31	„ „
1098				+	1098 a	50	17	35	„ „
1099				+	1099 a	50	20	26	„ „
1100			+		1100 a	40	14	19	„ „
1101			+		1101 a	40	14	24	Geringe Eireifung
1102	+				1102 a	45	8	30	Infantiles Organ
1103				+	1103 a	40	11	21	Corpus luteum
1104			+		1104 a	50	13	17	Sehr starke Eireifung
1105	+				1105 a	50	15	24	„ „ „
1106		+			1106 a	55	15	32	Geringe Eireifung
1107			+		1107 a	50	17	24	Sehr starke Eireifung

Tabelle 14 (Fortsetzung).

Tier Nr.	Spender: Scheidenabstrich: Di-oestrus	Pro-oestrus	Oestrus	Met-oestrus	Testtier (infantile Ratte): Tier Nr.	Tiergewicht in g	Organgewicht in mg: Ovarium	Uterus	Histologischer Befund des Ovariums
1109	+				1109a	50	15	24	Corpus luteum
1110	+				1110a	45	15	20	Sehr starke Eireifung
1111		+			1111a	50	14	14	Corpus luteum
1112		+			1112a	45	14	25	Sehr starke Eireifung
1113	+				1113a	55	15	28	Geringe Eireifung
1114	+				1114a	35	13	24	Infantiles Organ
1115	+				1115a	45	10	30	Geringe Eireifung
1116		+			1116a	40	18	34	Corpus luteum
1117		+			1117a	40	14	29	Geringe Eireifung
Gruppe II. Injektion des Hypophysenvorderlappenpulvers am 4. und 5. Tage nach der Transplantation.									
1130					1130a	80	32	54	Corpus luteum
1131					1131a	70	28	37	„ „
1132					1132a	70	28	39	„ „
1133					1133a	60	17	22	Sehr starke Eireifung
1134					1134a	50	14	25	Geringe Eireifung
1135					1135a	65	22	33	Sehr starke Eireifung
1136					1136a	60	32	41	Corpus luteum
1137					1137a	50	27	27	Sehr starke Eireifung
1138					1138a	70	32	41	Corpus luteum

plantat 50 i. B.E. Oestradiolmonobenzoat, dann zeigt die sonst ruhige Schilddrüse dieser Tiere am fünften Tage nachher die sicheren Zeichen der beginnenden Aktivitätssteigerung. Daraus folgt gleichzeitig, daß die Veränderung der Schilddrüse durch Follikelhormon über den Uterus nicht an einen Nervenweg gebunden ist.

Weiter konnten wir nachweisen:

1. Die durch Follikelhormon über den Uterus in der Schilddrüse hervorgerufenen Erscheinungen sind organspezifisch, denn sie treten nur auf, wenn Follikelhormon direkt mit Uterusgewebe zusammengebracht wird. Die Injektion von Follikelhormon in Implantate von Muskel-, Leber- oder Milzbrei ist ohne Wirkung.

2. Die Veränderungen in der Schilddrüse durch Follikelhormon sind auch spezifisch für die Substanz, denn sie finden sich nur, wenn Follikelhormon mit Uterusgewebe zusammengebracht wird. Körperfremde oestrogene Substanzen, denen das Grundskelet der Sterine fehlt, erlangen im Uterus keine schilddrüsenwirksame Eigenschaften[62a].

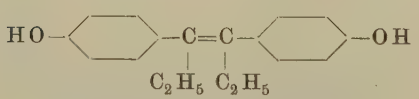
Injiziert man beispielsweise Diäthylstilboestrol[63] in Implantate von Uterusgewebe, so tritt trotz zusätzlicher Zufuhr von Hypophysenvorder-

[62a] Loeser: Klin. Wschr. **1939**, S. 346. — [63] Dodds u. Mitarbeiter: Nature **141**, 247 (1938); **142**, 211 (1938).

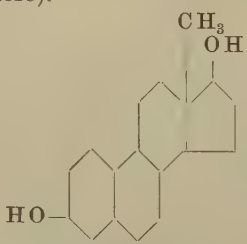
Tabelle 15. Der Einfluß der Uterustransplantation und der Injektion von Follikelhormon auf die Reaktionsfähigkeit des Ovariums normaler infantiler Ratten auf Hypophysenvorderlappenpulver (Gesamtmenge: 45 mg).

Nr. des Spenders	Testtier (infantile Ratte)				
	Tier Nr.	Tiergewicht in g	Oestradiolmonobenzoat in i. B. E.	Ovarium	
				Gewicht in mg	Histologischer Befund
1800	1800a	42	50	20	Infantiles Organ
1801	1801a	35	50	19	
1802	1802a	38	50	17	
1803	1803a	43	50	23	
1804	1804a	45	50	22	
1805	1805a	55	50	31	Corpus luteum
1806	1806a	34	50	17	
1807	1807a	49	50	23	
1808	1808a	41	50	20	
1809	1809a	40	50	21	Starke Follikelreifung
1810	1810a	38	50	17	
1850	1850a	30	50	11	
1851	1851a	41	50	14	
1852	1852a	28	50	12	
1853	1853a	39	50	12	
1854	1854a	32	50	13	
1855	1855a	40	50	13	Corpus luteum
1856	1856a	31	50	19	
1857	1857a	35	50	15	
1858	1858a	39	50	15	
1859	1859a	30	50	9	
1860	1860a	31	50	9	

appenpulver weder eine Veränderung in der Schilddrüse noch eine Veränderung im Ovarium (Corpora lutea) ein (20 Tiere).



4, 4′-Dioxy-α, β-Diäthylstilben (Diäthylstilboestrol).



Oestradiol.

Bemerkenswert ist schließlich noch, daß die einmalige alleinige Injektion von 50 i. B. E. Oestradiolmonobenzoat in den Ovarien von normalen infantilen Ratten keine Bildung von Corpora lutea verursacht. Auch bei Injektion von Follikelhormon außerhalb des Implantates bleibt die Bildung von Corpora lutea aus. Dabei ist es gleichgültig, an welcher Stelle die Injektion vorgenommen wird. Ebenso ist es belanglos, ob hierbei das Ovarium durch gonadotrope Wirkstoffe künstlich angeregt worden ist oder nicht.

Zusammenfassung.

Der normale Ablauf der Ovarialfunktionen wird bei der Ratte unter physiologischen Bedingungen durch zwei Vorgänge bestimmt:

1. zentral durch den Hypophysenvorderlappen, und
2. peripher durch das Ovarium selbst.

Der Hypophysenvorderlappen wirkt durch die Abgabe von gonadotropen Wirkstoffen gleichmäßig auf das Ovarium ein und schafft hierdurch die Vorbedingungen für den Ablauf der spezifischen Vorgänge in der Keimdrüse, d. h. für den Ablauf der Eireifung. Die zeitliche Folge der Eireifung bestimmt das Ovarium selbst mit Hilfe des Follikelhormons. Follikelhormon wirkt dabei nicht im Sinne einer Förderung oder Hemmung auf die Hormonmengen der Hypophyse ein, sondern ändert die Ansprechbarkeit des Ovariums auf den an sich gleichmäßigen funktionellen Reiz des Hypophysenvorderlappens. Diese Änderung erfolgt durch Vermittlung von Schilddrüsenstoffen, die das Follikelhormon auf dem Wege über den Uterus periodisch in Abhängigkeit vom Follikelsprung mobilisiert.

Die Selbststeuerung des Ovariums durch Follikelhormon wird nicht durch die Hypophyse, sondern durch das Ei ausgelöst. Sie bedeutet, daß nach dem Absterben des nicht befruchteten Eies und dem Zusammenbruch des Corpus luteum die vorübergehend abgesunkene Ansprechbarkeit des Ovariums auf gonadotrope Wirkstoffe wiederhergestellt und somit die Bereitstellung von neuen Eiern für die Befruchtungsvorgänge gewährleistet wird. Wird das Ei befruchtet, dann hebt das Corpus luteum-Hormon trotz der Sensibilisierung des Ovariums durch die Schilddrüse den gonadotropen Reiz auf und neue Follikel reifen nicht mehr heran.

Voraussetzung für die periphere Selbststeuerung des Ovariums ist die Anwesenheit von Follikelhormon, die Anwesenheit eines funktionstüchtigen Uterus und die Anwesenheit einer funktionstüchtigen Schilddrüse. Jede Störung in dieser Funktionseinheit führt zu Unregelmäßigkeiten im Ablauf der Ovarialfunktionen. Solange dabei der Hypophysenvorderlappen gonadotrope Hormone abgibt, bleibt die Tätigkeit des Ovariums als solche erhalten. Die Störungen der Funktionseinheit ändern zunächst nur den Rhythmus des Ovariums, d. h. an Stelle der gesetzmäßigen Vorgänge der Eireifung tritt ein ungeordneter Ablauf der Funktionen. Dies führt entweder zu einer vorzeitigen Erschöpfung des Ovariums (Totalexstirpation des Uterus) oder zu einem Absinken der Ansprechbarkeit des Ovariums auf die gonadotropen Hormone der Hypophyse (Entfernung der Schilddrüse). Die Zeichen der Erschöpfung treten aber nicht akut auf, sondern bilden sich infolge einsetzender Gegenregulationen erst allmählich aus. Das Endergebnis ist in jedem Falle ein vorzeitiges Erlöschen der Keimdrüsentätigkeit.

Die Bedeutung des Uterus für den normalen Ablauf der Ovarialfunktionen ist nach dieser Auffassung darin zu sehen, daß er als Schaltstelle

(Relais) die Rückwirkung des Follikelhormons auf das Ovarium über die Schilddrüse ermöglicht und damit als wichtiges Bindeglied der Funktionseinheit — Ovarium, Uterus, Schilddrüse — die Selbststeuerung des Ovariums mit gewährleistet.

Dem Uterus als solchem kommt diese Wirkung nicht zu. Seine endokrine Funktion entfaltet er nur unter Einwirkung des Follikelhormons. Diese ist, wie aus den Transplantationsversuchen hervorgeht, vom Nervenweg unabhängig. Sie ist dagegen weitgehend abhängig von dem Vorhandensein einer funktionstüchtigen Schleimhaut. Wird diese z. B. durch Elektrokaustik zerstört, dann bleibt die Wirkung von intrauterin injiziertem Follikelhormon auf die Schilddrüse, obwohl die Uterusmuskulatur erhalten ist, aus. Auf die Abhängigkeit des Uterus vom Follikelhormon ist es vermutlich auch zurückzuführen, daß es trotz zahlreicher Untersuchungen bisher nicht gelungen ist, ein eigentliches „Uterushormon" zu finden. Nach unseren Ergebnissen kann der Uterus nicht als selbständiges endokrines Organ angesehen werden. Nur unter dieser Einschränkung kann man dann von einer endokrinen Aufgabe des Uterus sprechen, die er neben seiner Aufgabe als Fruchthalter zu erfüllen hat.

V. Über die endokrine Bedeutung des Uterus beim Menschen.

Beim Menschen liegen ebenfalls Beobachtungen vor, die auf eine endokrine Tätigkeit des Uterus schließen lassen.

Das ergibt sich zunächst aus den zahlreichen Arbeiten[64], die sich mit den Folgen der Totalexstirpation des Uterus für die Funktion der zurückgelassenen Ovarien beschäftigen. Aus allen diesen Untersuchungen geht übereinstimmend hervor, daß die Keimdrüsentätigkeit nach Entfernung des Uterus auch beim Menschen ebenso wie beim Tier zunächst erhalten bleibt. Monate oder Jahre nach der Operation treten jedoch bei einem Teil der Frauen Beschwerden auf, die zwar den Ausfallserscheinungen nach Kastration gleichen, im Gegensatz zu diesen aber gelinder verlaufen und fast nie von einer Genitalatrophie oder von pathologischem Fettansatz begleitet sind. Für diese Störungen, die in erster Linie vasomotorischer Natur sind, hat Pankow[65] die Bezeichnung uterine Ausfallserscheinungen vorgeschlagen. Ihr Auftreten ist der erste klinisch nachweisbare Ausdruck für das vorzeitige Erlöschen der Ovarialfunktionen nach Entfernung des Uterus: Denn ebenso wie beim Tier führt auch beim Menschen die Exstirpation des Uterus zu Veränderungen im Ovarium. Dies zeigen sowohl anatomische wie funktionelle Untersuchungen. So konnte

[64] Winter: Arch. Gynäk. **150**, 619 (1932); Krane: Ebenda **164**, 101 (1937); Liebmann: Zbl. Gynäk. **1937**, S. 2716; Marx, Catchpole u. Mc Kennon: Surgery, Gynecolog a. Obstetrics **63**, 170 (1937); Birkner: Inaugur. Diss. Berlin 1936, daselbst weitere Literatur; Pankow: Münch. med. Wschr. **1909**, S. 265; Siegmund: Arch. Gynäk. **160**, 478 (1936); weitere Literatur siehe Fellner: Pflügers Arch. **231**, 411 (1933). — [65] Pankow: l. c.

Tonkes[66] bereits 1 Jahr nach Entfernung des Uterus bei einer 26jährigen Frau eine vollständige Degeneration des Keimgewebes beider Eierstöcke nachweisen. Ebenso geben Marx, Catchpole und McKennon[67] an, daß nach Entfernung des Uterus oft Atrophie und kleincystische Degeneration der Ovarien zu finden sind. Für eine mangelhafte bzw. erloschene Keimdrüsentätigkeit sprechen weiterhin die Beobachtungen von Marx, Catchpole und McKennon[68], sowie von Krane[69], aus denen hervorgeht, daß die Ausscheidung von Follikelhormon im Harn nach Uterusentfernung herabgesetzt ist bzw. fehlt. Gerade diese Erscheinung ist — bei Berücksichtigung des Alters der Patientin — das sicherste objektive Zeichen für das eintretende Klimakterium. Findet sich neben dem Fehlen von Follikelhormon gleichzeitig noch eine Mehrausscheidung von „Prolan", so spricht dies mit Sicherheit für einen vollständigen Ausfall der Ovarialfunktion. Dieser Ausfall wird dann frühzeitig zu erwarten sein, wenn das Ovarium bereits zur Zeit der Operation die Zeichen der Insuffizienz aufweist. Andererseits werden die Erscheinungen um so stärker sein, je näher die Frauen zur Zeit der Operation dem physiologischen Klimakterium sind. Sobald aber die Keimdrüsen ihre Tätigkeit einstellen, haben wir es nicht mehr mit uterinen sondern mit echten ovariellen Ausfallserscheinungen zu tun. Mit anderen Worten: Zwischen uterinen und ovariellen Ausfallserscheinungen besteht nur ein zeitlicher Unterschied. Anders ausgedrückt: Die uterinen Ausfallserscheinungen stellen den Übergang zu den ovariellen Ausfallserscheinungen dar.

Aus allen Beobachtungen geht hervor, daß die Folgen der Uterusentfernung hinsichtlich der Veränderungen der Keimdrüsentätigkeit beim Menschen und beim Tier weitgehend übereinstimmen. Das Endergebnis ist bei beiden die vorzeitige Atrophie des Ovariums. Daraus folgt aber, daß auch der menschliche Uterus im endokrinen Geschehen mehr als nur Erfolgsorgan für Follikelhormon ist.

Den eindeutigen Beweis für die Richtigkeit dieser Auffassung sehen wir in den wichtigen Beobachtungen von Nordmeyer[70] über die Folgen der Zerstörung der Uterusschleimhaut durch Einwirkung von Dampf (Atmokausis). Nach seinen Feststellungen machen sich auch bei diesem Vorgehen ähnlich wie nach Totalexstirpation des Uterus bei einer Reihe von Frauen, bei denen die Periode nach dem Eingriff spärlich und schwach wurde oder völlig ausblieb, Ausfallserscheinungen vasomotorischer, nervöser und somatischer Art bemerkbar. Da hiervon Frauen jeden Alters betroffen werden können, wird bei jüngeren Frauen sogar zur Zurückhaltung mit der Atmokausis geraten.

Gerade die zuletzt angeführten Tatsachen lassen vermuten, daß auch beim Menschen dem Uterus bzw. der Uterusschleimhaut eine ähnliche

[66] Tonkes: Zbl. Gynäk. **1936**, S. 37. — [67] Marx, Catchpole, McKennon: l. c. — [68] Marx, Catchpole, McKennon: l. c. — [69] Krane: Arch. Gynäk. **164**, 121 (1937). — [70] Nordmeyer: Zbl. Gynäk. **1938**, S. 2107.

Bedeutung zukommt, wie wir sie beim Tier nachgewiesen haben. Obwohl beim Menschen die anatomische Anordnung von Ovarium und Tube eine andere ist — es besteht hier keine Ovarialtasche, sondern ein anderer Auffangmechanismus[71], der ebenso wie die bei der Ratte beschriebene Ovarialtasche den direkten Übertritt des Eies in die Tube sichert —, ist dennoch anzunehmen, daß außer der Abgabe von Follikelhormon in das Blut auch beim Menschen ein direkter Übergang der hormonhaltigen Follikelflüssigkeit aus dem gesprungenen Follikel durch die Tube in den Uterus stattfindet. Wenn man schon zugeben muß, daß nicht feststeht, ob das Infundibulum tubae „sich gerade demjenigen Teil des Eierstocks, an welchem ein Follikel platzt, zuwendet und wie es dies macht[72]", andererseits aber zum Ansaugen des Eies ein Umgreifen des Ovariums durch die Tube erforderlich ist, dann ist nicht einzusehen, warum bei diesem Ansaugen gerade die Follikelflüssigkeit und nicht etwa das Ei in die Bauchhöhle geraten soll. Die Annahme, daß die Follikelflüssigkeit in die Bauchhöhle abfließt, ist unseres Erachtens nicht richtig.

Wir glauben vielmehr, daß beim Menschen nach jedem Follikelsprung mit dem Ei auch die follikelhormonhaltige Flüssigkeit durch die Tube in den Uterus gelangt. Das Follikelhormon trifft hier auf eine reaktionsfähige Schleimhaut, die bereits durch das aus den atresierenden Begleitfollikeln stammenden und im Blute kreisenden Follikelhormon vorbereitet ist. Diese vorbereitete Schleimhaut erfährt jetzt durch die zusätzliche Hormonmenge den stärksten Grad ihres proliferativen Aufbaus. In Berührung mit der proliferierten Uterusschleimhaut erlangt das Follikelhormon — durch chemische Umwandlung oder indem es die Bildung anderer Stoffe anregt — gleichzeitig schilddrüsenwirksame Eigenschaften, d. h. es regt die Tätigkeit der Schilddrüse an. Dadurch werden Schilddrüsenstoffe vermehrt frei, die nun ihrerseits auf das Ovarium einwirken und in der für das Tier beschriebenen Weise die Ansprechbarkeit der Keimdrüse auf den gleichmäßigen funktionellen Reiz des Hypophysenvorderlappens regeln.

Weiterhin ist anzunehmen, daß das aus dem gesprungenen Follikel in die Tube gelangte Follikelhormon vielleicht auch für die peristaltischen Bewegungen der Tube und damit für den Eitransport mitverantwortlich zu machen ist.

Die Auffassung, daß der Uterus eine Schaltstelle (Relais) für die Rückwirkung von Follikelhormon über die Schilddrüse auf das Ovarium darstellt, erleichtert nicht nur das Verständnis für manche Allgemeinreaktion nach uterinen Erkrankungen, sondern liefert gleichzeitig auch die

[71] Siegmund, H.: Wiener klin. Wschr. **1939**, S. 117; Westmann, Mikulicz-Radecki, Caffier: Literatur siehe Breipohl: Z. f. Geburtsh. u. Gynäk. **118**, 1 (1938). — [72] Braus: Anatomie des Menschen, Bd. II, S. 504. Berlin, Julius Springer, 1924.

Erklärung für das Anschwellen der Schilddrüse in den verschiedenen Phasen des weiblichen Geschlechtslebens und vielleicht auch für die Bevorzugung des weiblichen Geschlechts bei der Entstehung von Schilddrüsenerkrankungen.

Zusammenfassung.

Es wird die Bedeutung des Uterus für den normalen Ablauf der Ovarialfunktionen untersucht.

Die cyclischen Vorgänge im Ovarium der Ratte werden nicht durch cyclische Änderungen im Hormongehalt der Hypophyse verursacht, sondern das Ovarium bestimmt seinen Cyclus durch Änderung seiner Ansprechbarkeit auf die von der Hypophyse gleichmäßig abgegebenen gonadotropen Wirkstoffe selbst. Diese Selbststeuerung erfolgt durch Follikelhormon, das aus dem gesprungenen Follikel mit dem Ei durch die Ovarialkapsel und die Tube direkt in den Uterus gelangt. In Berührung mit der proliferierten Uterusschleimhaut erlangt das Follikelhormon — durch chemische Umwandlung oder indem es die Bildung anderer Stoffe anregt — schilddrüsenwirksame Eigenschaften, d. h. es regt die Tätigkeit der Schilddrüse an. Dadurch werden Schilddrüsenstoffe vermehrt frei, die jetzt ihrerseits auf das Ovarium einwirken und die Ansprechbarkeit des Ovariums auf den gleichmäßigen funktionellen Reiz des Hypophysenvorderlappens regeln.

Diese Anschauung ergibt sich:

1. aus der Wirkung von Schilddrüsenstoffen auf das Ovarium,

2. aus den Folgen der Entfernung des Uterus für die Beziehungen zwischen Ovarium, Hypophyse und Schilddrüse, und

3. aus klinischen Beobachtungen.

Die Bedeutung der beschriebenen Vorgänge für den Menschen wird diskutiert.

Die Untersuchungen wurden mit Mitteln der Deutschen Forschungsgemeinschaft und der Freiburger Wissenschaftlichen Gesellschaft ausgeführt.

Prinzipielle und kritische Stellungnahme zur experimentellen Auswertung kreislaufaktiver Stoffe.

Von

Dr. med. **Rud. Klotz**, Dresden.

(Eingegangen am 10. Februar 1939.)

In einer ganz vorzüglichen, umfassenden Arbeit haben sich Böger, Deppe und Wezler der Auswertung von Kreislaufmitteln auf S. 480, Bd. 189, dieser Zeitschrift zugewendet („Die Dynamik des menschlichen Kreislaufes unter der Wirkung von Kreislaufmitteln"). Sie lehnen die Untersuchungen solcher Stoffe am überlebenden Organ sowie im Tierversuch allein als ungenügend ab und verlangen mit vollem Recht die weitere exakte Untersuchung am Menschen selber. Ganz systematisch haben sie eine strenge Kreislaufanalyse am Menschen durchgeführt durch gleichzeitige Bestimmung des Schlagvolumens, der Pulsfrequenz, des Minutenvolumens, des peripheren Strömungswiderstandes, der Blutdruckwerte (diastolischer und systolischer Blutdruck, Blutdruckamplitude und Mitteldruck) und Pulswellengeschwindigkeiten in verschiedenen Arterien. Durch Heranziehung dieser möglichst vollständigen Analyse der mechanischen Kreislaufgrößen gelang es ihnen tatsächlich, ein genaues Überblicksbild über den Kreislaufzustand in toto jeweils zu gewinnen. Bei ihren Feststellungen betonen die Autoren nun zwar ausdrücklich, „daß ein und dasselbe Mittel im gleichen Organismus, in gleicher Dosierung und Applikationsart je nach der Reaktionslage weitgehend verschiedene Wirkung im Kreislauf entfalten kann", führen aber ihre Untersuchungen über die kreislaufaktiven Stoffe an kreislaufgesunden Menschen — bei einer normalen systolischen Blutdruckhöhe von 100 bis etwa 120 mm Hg, nach den abgebildeten Kurven — durch, haben dabei also die Auswahl der entsprechenden Ausgangslage des Kreislaufes nicht berücksichtigt! Insofern ist die experimentelle Fragestellung und die Versuchsanordnung eine unrichtige, und es ist kein Wunder, daß sie z. B. beim Pitressinversuch nur eine Blutdruckerhöhung ganz geringen Grades und nur von wenigen Minuten Dauer bekommen, und daß sie weiterhin eine Pulsfrequenzänderung nicht beobachten können. Ganz anders im klinischen Versuch beim kreislaufkranken Menschen! Ich habe schon im Jahre 1912, als ich als erster in Deutschland mich mit der Kreislaufwirkung des Hypophysenhinterlappenextraktes tierexperimentell und klinisch beschäftigte, darauf hingewiesen, daß Pituitrin, bei Tier und Mensch mit normalem Blutdrucke eingespritzt, nur zu einer unbedeutenden Erhöhung desselben oder sogar nach kurzem Anstieg zu einer Erniedrigung des Blutdruckes führt[1]). Anders fällt das Ergebnis jedoch aus, wenn Pituitrininjektionen bei einem Menschen mit Blutdrucksenkung vorgenommen werden, gleichgültig, ob diese akut toxisch, konstitutionell hypotonisch oder mehr mechanisch reflektorisch bedingt ist! Ich habe bei meinen Peritonitiskranken mit toxischer Blutdrucksenkung Blutdrucksteigerungen von 20—50 und mehr mm Hg über viele Stunden lang nachgewiesen und eine Herabsetzung der Pulszahl fast ausnahmslos, bis zu 15 und 20%, beobachten können[2]). Hieraus ist zu ersehen, daß bei Untersuchungen kreislaufaktiver Stoffe die Ausgangslage des Kreislaufes von ausschlaggebender Bedeutung ist. Wollen wir ein Kreislaufmittel mit blutdrucksteigern-

[1] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **65**, 348: „Experimentelle Studien über Pituitrin". — [2] Vgl. Mschr. f. Geburtsh. **36**: „Über Peritonitisbehandlung mit Hypophysenextrakt".

der Wirkung prüfen, so muß es bei der Ausgangsstellung der Blutdruckerniedrigung, deren Behandlung wir mit ihm erstreben, erprobt werden, sonst bekommen wir einen falschen Eindruck seiner klinischen Wirkung und Brauchbarkeit. So kommt es bei Pitressininjektionen nach den Worten von Böger „auffallenderweise durch die starke periphere Kontraktion nicht zu einer initialen Minutenvolumensteigerung, die man als Entleerung der Blutdepots deuten müßte", und „ein weiterer auffallender Befund liegt darin, daß es trotz der Steigerung des diastolischen und des Mitteldruckes nicht zu einer reflektorischen Pulsfrequenzabnahme auf dem Wege über die Pressorezeptoren kommt". Das ist aber gar nicht auffallend, weil ja am gesunden Menschen mit stabilem Gefäßtonus bei normalen Kreislaufverhältnissen experimentiert wurde! Ganz anders ist die Kreislaufwirkung in einem Falle von Kollaps oder hypotonischer Blutdrucksenkung, wo die peristatische Anschoppung im Splanchnicusgebiet (einschließlich Depotorgane) dem Pitressin ja erst die Möglichkeit bietet, kontraktorisch hier an der eröffneten peripheren Strombahn anzugreifen und so dem Kreislauf die ihm entzogene Blutmenge wieder zuzuführen. Im letzteren Falle wird selbstverständlich auch das Minutenvolumen und Schlagvolumen durchaus anders beeinflußt sein als in ersterem. Weiterhin ist es, begreiflicherweise, viel schwerer, die Herzschlagfolge beim Gesunden aus ihrer normalen, stabilen Gleichgewichtslage zu lösen, als eine krankhaft veränderte, labile beim Kreislaufkranken zu beeinflussen. Tatsache ist, daß für den Kliniker in Fällen von Blutdrucksenkung eine Blutdrucksteigerung über viele Stunden und eine Herabsetzung der Pulsfrequenz durch das vasopressorische Hypophysenhinterlappenhormon (Pitressin usw.), oftmals schon bei relativ geringer Dosis, einwandfrei feststeht! Die Diskrepanz zwischen klinischem Erfolg und experimentellem Versuch am Menschen ist darin zu sehen, daß die Ausgangsstellung des Kreislaufes bei der experimentellen Versuchsanordnung nicht richtig gewählt war. Auf diesen Punkt aufmerksam zu machen, ist die Pflicht des Klinikers, dem die praktische Erfahrung die erfolgreiche Wirkung am Kranken selbst vor Augen führt. Es wäre außerordentlich dankenswert, wenn diese ausgezeichnete und überaus wichtige Arbeit über kreislaufaktive Stoffe durch Untersuchungen bei der Ausgangsstellung eines erniedrigten Blutdruckes, also z. B. beim toxischen Kollaps, oder einfacher, bei Zuständen hypotonischer Blutdruckerniedrigung vervollständigt würde. Als prinzipielle Forderung aber ist aufzustellen, daß Untersuchungen über Kreislaufmittel bei der pathologischen Ausgangslage des Kreislaufes vorzunehmen sind, bei der sie therapeutisch Hilfe bringen sollen: hier also bei Blutdruckerniedrigung — sonst ist der Wert der gefundenen experimentellen Ergebnisse für Klinik und Praxis in Frage gestellt!

Aus dem Institut für Animalische Physiologie der Universität Frankfurt a. M. und der I. Medizinischen Klinik der Universität München.

Zur experimentellen Auswertung kreislaufwirksamer Stoffe am Menschen.

(Eine Erwiderung auf die „Kritische Stellungnahme" von R. Klotz).

Von

K. Wezler und A. Böger.

(Eingegangen am 17. Februar 1939.)

Unsere Abhandlung über „die Dynamik des menschlichen Kreislaufes unter der Wirkung von Kreislaufmitteln"[1] hat Klotz zu einer „prinzipiellen und kritischen Stellungnahme zur experimentellen Auswertung kreislaufaktiver Stoffe" veranlaßt, durch welche er an dem Beispiel eines von uns mitgeteilten Pitressinversuchs seine Auffassung zu begründen versucht, daß unsere „experimentelle Fragestellung und Versuchsanordnung eine unrichtige sei", weil unsere Untersuchungen an kreislaufgesunden und nicht an kranken Menschen durchgeführt worden seien. Diese Auffassung und die weiteren Ausführungen erfordern einige Richtigstellungen, die kaum notwendig geworden wären, wenn Klotz durch ein etwas eingehenderes Studium unserer Arbeit tiefer in das von uns behandelte Problem eingedrungen wäre.

Dieses Problem war bereits in der Einleitung klar von uns herausgestellt: Nicht die typische, die etwa für ein Mittel spezifische, d. h. immer gleichbleibende, Wirkung eines bestimmten Mittels sollte einer umfassenden Analyse unterzogen werden, vielmehr hatten wir uns die Aufgabe gestellt, aus den Ergebnissen zahlreicher Analysen „die typischen und atypischen Reaktionsabläufe im Kreislaufe des gesunden Menschen unter der Einwirkung einzelner körperfremder und körpereigener Wirkstoffe zur Darstellung zu bringen". Denn unsere ausgedehnten experimentellen Erfahrungen an Kranken und Gesunden hatten uns gezeigt, daß „auch am gesunden Menschen der gleiche Reaktionsablauf grundsätzlich unter dem Einfluß verschiedener Mittel, je nach der Dosierung und der individuellen Reaktionslage, beobachtet werden kann". Es bedarf keiner näheren Begründung, daß bei derartigen vergleichenden Untersuchungen unter stets gleichbleibenden äußeren und inneren Versuchsbedingungen gearbeitet werden muß, und dazu gehört — wie wir das ausdrücklich betont haben — eine möglichst in allen Versuchen gleiche Ausgangslage des Kreislaufes der Versuchspersonen im Ruhezustande. Eine solche kann aber nur einigermaßen vorausgesetzt werden beim kreislaufgesunden Individuum, nicht aber beim Kreislaufkranken oder auch vegetativ Labilen, die wir denn auch bewußt bei den in Rede stehenden Untersuchungen ausschalten mußten. Nur durch die Klärung der Fragestellung in der von uns gewählten Form konnte überhaupt erst der feste Boden gewonnen werden, von dem ausgehend der Einfluß der Dosierung und der Reaktionslage der Versuchsperson auf den so verschiedenen Reaktionsablauf im Kreislauf nach ein und demselben Mittel beim Gesunden und bei den u. U. extrem veränderten Reaktionslagen Kreislaufkranker untersucht und entsprechend beurteilt werden konnte. In klarer Erkenntnis dieser Tatsachen haben wir denn auch in unserer Arbeit geschrieben:

[1]) Naunyn-Schmiedebergs Arch. **189**, 480 (1938).

„In einer weiteren Mitteilung werden wir daher gerade den Einfluß der Dosierung der Mittel und der Reaktionslage der Versuchsperson auf den verschiedenartigen Reaktionsablauf nach ein und demselben Mittel herausarbeiten, denn dieses erscheint uns eine Vorbedingung für die Charakterisierung der spezifischen Wirkungsweise eines bestimmten Mittels bzw. für die Entscheidung der Frage, wie weit man überhaupt von einer derartigen spezifischen Wirkung im Einzelfalle sprechen kann."

Damit erübrigen sich nicht nur die Vorschläge von Klotz, daß „es außerordentlich dankenswert wäre, wenn ... diese Arbeit über kreislaufaktive Stoffe durch Untersuchungen bei der Ausgangsstellung eines erniedrigten Blutdrucks, z. B. bei toxischem Kollaps oder einfacher bei Zuständen hypotonischer Blutdruckerniedrigung, vervollständigt würden" — über solche verfügen wir bereits seit langem —, sondern es muß auch unverständlich bleiben, inwiefern unsere „experimentelle Fragestellung und Versuchsanordnung eine unrichtige" gewesen ist. Diese Auffassung kann u. E. nur in einer Verkennung unserer Problemstellung ihre Erklärung finden.

Aus unserer Arbeit dürfte für den aufmerksamen Leser ohne weiteres ersichtlich sein, daß wir uns nicht nur in keinem Gegensatz zu Klotz befinden, sondern gerade das betont haben, was Klotz irrtümlich bei uns zu vermissen glaubt, daß nämlich bei Untersuchung und Bewertung der Wirkung kreislaufaktiver Stoffe die Ausgangslage des Kreislaufes — und, wie wir hinzufügen, außerdem die Dosierung und individuelle Reaktionslage — von ausschlaggebender Bedeutung ist. Wie sehr wir gerade bei unseren zahlreichen Untersuchungen über die Dynamik des menschlichen Kreislaufes darauf Bedacht genommen haben, dürfte Klotz klar werden, wenn er auch in unsere anderen Veröffentlichungen Einblick nehmen würde.

Daß die Wirkung eines Kreislaufmittels, z. B. im Zustande des Kollapses — also bei krankhaft veränderter Reaktionslage —, eine ganz andere sein kann, haben wir nicht bestritten. Das halten wir nach unseren eigenen Untersuchungen und Erfahrungen für mehr als wahrscheinlich.

In einem Vortrag „Vegetatives Nervensystem und Kreislauf" auf dem Internationalen Physiologenkongreß in Zürich 1938 (vgl. Kongreßbericht S. 345) hat K. Wezler auf Grund eines großen Materials aus verschiedenen Versuchsreihen, die gemeinsam mit A. Böger, R. Knebel, B. Deppe, Klaus Goyert, O. Otto, W. Zabel, Everts durchgeführt wurden, an Hand von Kurven und Tabellen Beweise dafür erbracht, daß es mit unseren Methoden gelingt, unter gesunden jungen Männern ausgeprägte Typen besonderer vegetativer Struktur zu finden, und daß auch der gleiche Mensch zu verschiedenen Zeiten ein wechselndes vegetatives Gleichgewicht zeigen kann. Der „vagotonische" Typus („histotrope" Einstellung nach W. R. Hess) ist danach durch niedriges Minutenvolumen, hohen peripheren Widerstand, niedriges Verhältnis des elastischen zum peripheren Widerstand, niedrige Herzleistung in Ruhe ausgezeichnet. Der „sympathicotonische" Typus („ergotrope" Einstellung nach W. R. Hess) besitzt umgekehrt schon in Ruhe ein hohes Minutenvolumen, einen niedrigen peripheren Widerstand und ein hohes Verhältnis E/W und eine hohe Herzleistung. In den Werten von Blutdruck und Pulsfrequenz allein kommen diese Unterschiede nicht zum Ausdruck. Die Schwankungsbreite, Extrem- und Durchschnittswerte der maßgebenden Größen für die verschiedenen Typen wurden mitgeteilt. Ferner wurde von Wezler in diesem Vortrag an den Ergebnissen von Belastungsversuchen (Arbeit, Adrenalin) gezeigt, daß tatsächlich entsprechend den Vorstellungen von W. R. Hess ein Kreislauf, der schon in Ruhe stark unter der Sparfunktion des Vagus (des „histotropen" Systems) steht, sich gegenüber ganz bestimmten Belastungen durch eine verhältnismäßig stärkere Steigerungsfähigkeit der Kreislaufleistung auszeichnet. Es wurde nämlich gezeigt, daß die prozentualen Änderungen des Minutenvolumens,

der Widerstandswerte, der Herzleistung unter der betreffenden Belastung stetige Funktionen des Ruhezustandes sind, daß sie um so stärker sind, je niedriger z. B. das Minutenvolumen in Ruhe war. Wörtlich heißt es dann in dem Referat des Vortrages von Wezler (Kongreßbericht S. 346): „Mit den neuen Methoden läßt sich nachweisen, daß diese Abhängigkeit der Reaktionsform vom vegetativen Ausgangszustand sich nicht nur in den quantitativen Ausmaßen der Reaktion äußert, sondern zu einer im Erscheinungsbild geradezu umgekehrten Reaktion führen kann. Sympatol und Pitressin, die in bestimmter Dosis in der Regel zu einer Widerstandserhöhung, einer Abnahme von Minutenvolumen und Herzleistung führen, können bei ausgeprägtem vagotonischem Ruhezustand umgekehrt eine Erhöhung des Minutenvolumens und der Herzleistung und eine Widerstandsabnahme unter gleichen äußeren Bedingungen bewirken. Hier ergeben sich Beziehungen zu den am Nervensystem gesammelten Erfahrungen über den Funktionswandel bzw. die Umstimmung z. B. auf motorischem Gebiete (A. Bethe), auf rezeptorischem Gebiete (v. Weizsäcker, Achelis), der peripheren Nerven (Lapique) und im vegetativen System (Pick u. a.)." Die Versuche, die eine solche Umstimmung unter Pitressin, das R. Klotz besonders interessiert, erkennen ließen, wurden von K. Wezler mit R. Knebel und Everts ausgeführt.

Wahrscheinlich hätte R. Klotz seine „prinzipielle und kritische Stellungnahme" nicht geschrieben, sicher aber anders formuliert, wenn ihm der Inhalt dieses Züricher Vortrages bekannt gewesen wäre.

Wenn Klotz das Ergebnis des von ihm herangezogenen Pitressinbeispiels unserer Arbeit als „garnicht auffallend" bezeichnet, weil wir unsere Untersuchungen an kreislaufgesunden Menschen mit „stabilem Gefäßtonus" ausgeführt haben, und dann fortfährt: „Ganz anders ist die Kreislaufwirkung in einem Falle von Kollaps oder hypotonischer Blutdrucksenkung, wo die peristatische Anschoppung im Splanchnicusgebiete (einschließlich der Depotorgane) dem Pitressin ja erst die Möglichkeit bieten, kontraktorisch hier an der eröffneten peripheren Strombahn anzugreifen und so dem Kreislaufe die ihm entzogene Blutmenge zuzuführen", so ist zu fragen, wie er es sich dann erklärt, daß wir in zahlreichen anderen Versuchen am Gesunden auch mit anderen Kreislaufmitteln eine starke periphere Gefäßkonstriktion und initiale Minutenvolumensteigerung beobachteten, die wir, wohl mit Recht, auf eine Depotentleerung zurückgeführt haben. Auch bei diesen Versuchspersonen lag dann, um mit Klotz zu sprechen, ebenso ein „stabiler Gefäßtonus" vor. Wenn Klotz annimmt, daß unter den Bedingungen des Kollapses oder der Hypotonie „selbstverständlich auch das Minutenvolumen und das Schlagvolumen durchaus anders beeinflußt wird" als in unserem Beispiel, so ist das nach unseren Versuchen und obigen Ausführungen denkbar. „Sicher" ist aber nur, was man durch experimentelle Untersuchungen mit einwandfreier Methodik, die zu unseren von Klotz kritisierten Untersuchungen in Vergleich gesetzt werden können, belegen kann. Ob Klotz über derartige Untersuchungen verfügt, entzieht sich unserer Kenntnis; er hätte gut daran getan, sie dann zu veröffentlichen. Bestimmt reicht aber zur Begründung derartiger Auffassungen lediglich der völlig undurchsichtige Blutdruckversuch nicht aus, wie wir das so oft betont und auch in der in Rede stehenden Arbeit nochmals gezeigt haben.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität München.

Morphin und Dihydrodesoxymorphin, verglichen mittels einer neuen Methode der Motilitätsmessung.

Von

A. W. Forst.

Mit 12 Textabbildungen.

(Eingegangen am 23. Dezember 1938.)

In einer früheren Veröffentlichung[1] wurde eine Methode bekanntgegeben, die es gestattete, sedative Einflüsse auch geringsten Grades durch Wertung der Eindämmung der Lauftätigkeit freibeweglicher Mäuse zu erkennen und zu registrieren. Die Methode ließ zwar größere Unterschiede gleichartig beruhigender Wirkungen erkennen, war jedoch zu einer quantitativen Festlegung feinerer Unterschiede in der Bewegungsgröße nicht geeignet. Diesem Zweck soll das nachfolgend beschriebene Verfahren dienen.

Methodik.

Die Apparatur besteht aus einem runden Blechteller von 25 cm Durchmesser, auf dem sich unter einer Glasglocke eine Maus vollkommen frei umherbewegen kann (Abb. 1). Die Oberfläche des Tellers ist mit einem leicht auswechselbaren grauen Papier bedeckt. Der Teller (Laufteller) (Abb. 2) *LT* besitzt an

Abb. 1.

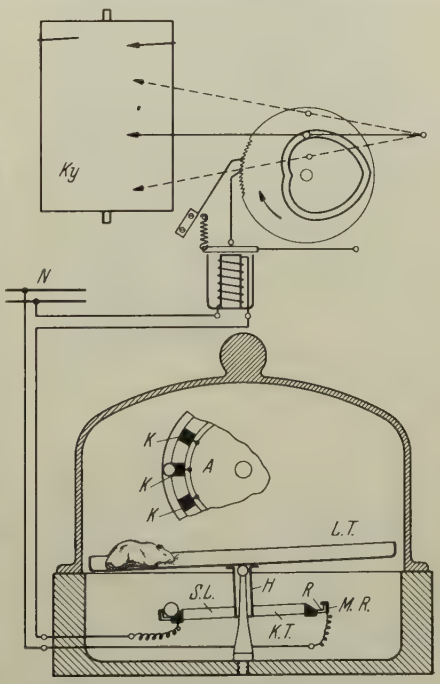


Abb. 2.

[1] Forst, A. W.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **189**, 288 (1938).

seiner Unterseite im Mittelpunkt eine nach unten offene Hülse von etwa 1 cm Durchmesser. Diese Hülse (*H*) ist über einen Zapfen gestülpt, dessen oberes Ende kugelförmig gestaltet ist, so daß der Teller in einem Neigungswinkel von 3,5° nach jeder Seite hin kippen kann. Ein Rotieren des Tellers ist durch eine einfache Haltevorrichtung verhindert. Durch das Gewicht des Tieres neigt sich der Teller in einem begrenzten Bereich stets in die Richtung, in der sich das Tier gerade befindet.

Unterhalb des Lauftellers ist ein kleinerer Teller aus Isolierstoff (Kontaktteller *KT*) an der Hülse stabil befestigt, parallel zum Laufteller in einem Abstande von 5—6 cm. An der Peripherie dieses Tellers ist eine Rinne (*R*) eingedreht, die nach außen von einem Metallring (*MR*) begrenzt ist. An der Innenseite dieser Rinne sind in ringförmiger Anordnung 12 Kontaktstellen (*K*) gleichmäßig angebracht (vgl. Abb. 2A). Neigungsänderungen des oberen Tellers bringen eine Metallkugel in Bewegung, die entsprechend der Kippbewegung des Lauftellers mehr oder weniger Kontaktstellen überrollt und somit auch mehr oder weniger Kontaktschlüsse verursacht. Der Metallring ist der eine Pol, die zusammengeschlossenen Kontaktstellen der andere Pol. Fig. 2A stellt einen sektorähnlichen Ausschnitt des Kontakttellers in Aufsicht dar. Durch einen kleinen Kondensator in Parallelschaltung ist das Entstehen von Kontaktfunken verhindert.

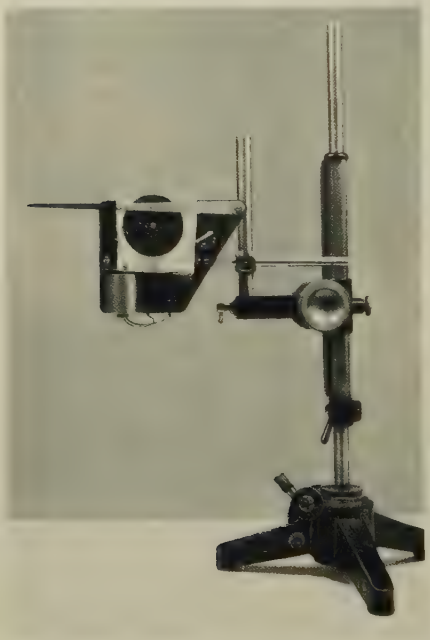


Abb. 3.

Das wechselnde Ausmaß der Laufbewegung des Tieres führt zu einem mäßigeren oder heftigeren Umherrollen der Kugel, mitunter auch nur zu einem Hin- und Herrollen und damit zu einer wechselnden Anzahl von Stromschlüssen in der Zeiteinheit. Bei Ruhelage des Tieres unterbleibt das Rollen der Kugel und es erfolgt kein Stromschluß.

Die fortlaufende Aufzeichnung der Stromschlüsse am Kymographion geschieht durch eine besondere elektromagnetische Registriervorrichtung (Abb. 3). Diese ist so ausgebildet, daß jeder einzelne Stromschluß auch bei dichtester Aufeinanderfolge deutlich ablesbar bleibt. Auf einem runden Sperrad (Abb. 2, Fig. 1), in dessen Umfang 100 Zähne gleichmäßig eingeschnitten sind, befindet sich eine herzförmige Führungsrinne. Diese führt den Schreibhebel. Ein Elektromagnet in Verbindung mit einer Sperrklinke erlaubt pro Stromstoß ein Weiterrücken des Sperrades um einen Zahn. Das Übersetzungsverhältnis des Hebels ist so gewählt, daß ein Kontaktschluß die Schreibhebelspitze um 1 mm hebt oder senkt. Nach erfolgter Hebung um 50 mm, d. h. nach 50 Stromschlüssen, wird der Hebel wiederum millimeterweise um 50 mm gesenkt, um dann wieder nach oben geführt zu werden. Es stellen also 100 Stromschlüsse eine auf- und abwärtslaufende Linie dar, von der absoluten Höhe 50 mm. Die Entfernung von der Basis bzw. Gipfellinie jedes Punktes der Kurve in Millimetern ergibt somit die Anzahl der Kontaktschlüsse*.

* Die gesamte Apparatur wurde von Herrn Carl Heuwing, Feinmechanische Werkstätte im Pharmakologischen Institut München, Nußbaumstr. 26 gebaut, und kann von dort bezogen werden.

Die Gesamtzahl der Stromschlüsse, sowie deren gleich- oder ungleichmäßige Verteilung auf die Dauer des Versuchs liefert ein Bild der wechselnden Lauftätigkeit des Tieres in den einzelnen Zeitabschnitten. Die Dauer des Versuchs läßt sich beliebig lange ausdehnen; wir haben sie bisher auf 3 Stunden festgelegt. Der Vergleich der Zahl der Kontaktschlüsse normaler und behandelter Tiere gestattet die Wirkungsunterschiede von sedativen oder auch erregenden Substanzen quantitativ auszudrücken.

Um auch die zeitlichen Schwankungen in der Lauftätigkeit der Tiere rechnerisch zu erfassen, wird die Lauftätigkeit für jede Viertelstunde ausgezählt. Als Einheit für die Zählung gelten jeweils 50 Stromschlüsse, die auf der Kurve als einmaliger Aufstieg oder Abstieg des Schreibhebels erscheinen. Sodann werden aus den 12 Viertelstundenziffern jedes Tieres fortlaufend die Mittelwerte gebildet (1. und 2. 2. und 3. . . . 11. und 12. Viertelstunde). Dabei werden 11 Zahlen erhalten, die in ein Ordinatensystem eingetragen werden. Diese Mittelzahlen weisen gemäß den Temperamentsunterschieden der einzelnen Tiere größere Abweichungen auf. Durch Zusammenfassung von je 10 Tieren zu einer Gruppe, Berechnung der Viertelstundenwerte und Bildung der Durchschnitte aus diesen Mittelwerten für das ganze Kollektiv gelangt man zu Ziffern, die sich bei graphischer Darstellung in der Regel zu einem ziemlich glatten Streckenzug einordnen.

Normaltiere.

A. Bestimmung der Gesamtzahl der Stromschlüsse innerhalb drei Stunden.

Gemessen wurde bisher die Lauftätigkeit von 250 unbehandelten männlichen Mäusen. Die Lauftätigkeit der einzelnen Tiere ist im Verlaufe der Versuchszeit Schwankungen unterworfen. Der Bereich der Schwankungen wird aus Tabelle 1 ersichtlich, in der die von 250 Tieren ausgelösten Stromschlußzahlen wiedergegeben sind. (Die Versuche verteilen sich auf einen Zeitraum von einem Jahre). Wie die Tabelle zeigt, liegt die Gesamtsumme der Stromschlußzahlen pro Tier am häufigsten im Bereiche zwischen 16 und 25 (74 Tiere) sowie zwischen 11—15 (27 Tiere) und 26—30 (24 Tiere). Die Hälfte aller Tiere liefert also Gesamtziffern zwischen 11—30. Die andere Hälfte verteilt sich auf die Bereiche von 3—10 und 31—100. Werte über 100 sind selten (15 Tiere).

Tabelle 1.

a	*b*	*a*	*b*	*a*	*b*	*a*	*b*
1—5	6	31—35	18	61—65	1	91—95	1
6—10	19	36—40	17	66—70	3	96—100	1
11—15	27	41—45	13	71—75	2	101—150	8
16—20	38	46—50	5	76—80	4	151—200	4
21—25	36	51—55	10	81—85	4	über 200	3
26—30	24	56—60	4	86—90	2		

a = Zahlenbereich. *b* = Anzahl der Tiere, deren Gesamtstromschlußziffern im Bereiche *a* liegen. Das arithmetische Mittel der Gesamtstromschlüsse, errechnet aus den Ziffern aller 250 Tiere, beträgt 37,2.

B. Bestimmung der Viertelstunden-Mittelwerte.

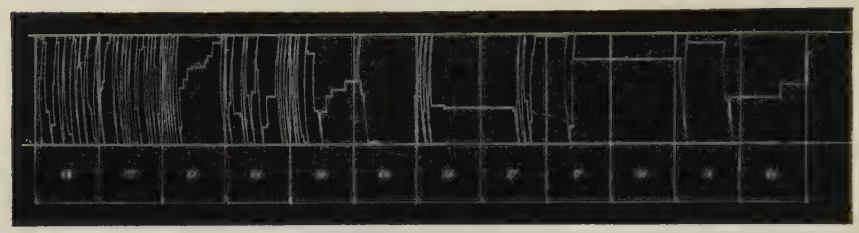


Abb. 4. Maus Nr. 223. 20 g. Normalkurve.

Tabelle 2. Beispiel für die Berechnung der Viertelstunden-Mittelwerte aus der Kurve eines Normaltieres.

Viertelstunde	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Summe
Zahlen pro Viertelstunde	6,8	11,1	6,0	8,6	3,8	0,9	2,6	2,7	1,1	0,0	1,6	0,2	83
Summe von 2 folgenden Viertelstunden	17,9	17,1	14,6	12,4	4,7	3,5	5,3	3,8	1,1	1,6	1,8		
Arithmetisches Mittel	8,9	8,5	7,3	6,2	2,3	1,7	2,6	2,4	0,5	0,8	0,9		

Tabelle 3. Beispiel für die Berechnung von Durchschnitten aus den Mittelwerten der Kurven von 10 Normaltieren.

A	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Summe
B	73,8	55,1	33,7	28,0	25,6	10,0	10,8	6,8	2,1	10,5	3,1	4,1	236,6
C	128,9	88,8	67,7	53,6	35,6	20,8	17,6	8,9	12,6	13,6	7,2		
D	64,4	44,4	30,8	26,8	17,8	10,4	8,8	4,4	6,3	6,8	3,6		
E	6,4	4,4	3,1	2,7	1,8	1,0	0,9	0,4	0,6	0,7	0,4		

A = Viertelstunde. *B* = Zahlen pro Viertelstunde für 10 Tiere (Nr. 221—230). *C* = Summe aus 2 folgenden Viertelstunden. *D* = Arithmetisches Mittel. *E* = Durchschnitt pro Tier.

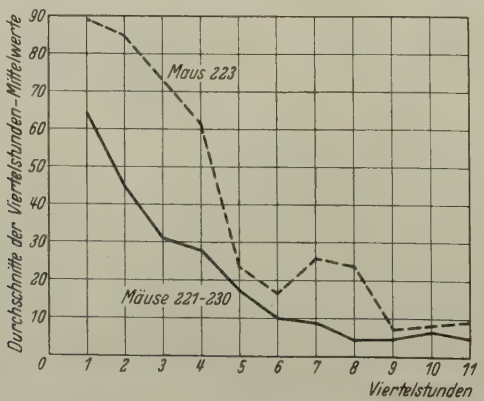


Abb. 5. Graphische Darstellung der Viertelstunden-Mittelwerte für ein Tier, sowie der Durchschnitte für eine Gruppe von 10 Tieren.

Die 250 Normaltiere wurden in der Reihenfolge der Protokollnummern zu 25 Gruppen von je 10 Tieren zusammengestellt und wiederum die Durchschnittswerte aus den Viertelstundenziffern für jede Gruppe berechnet. Die so erhaltenen 25 Streckenzüge verlaufen bei graphischer Aufzeichnung in einer Fläche, die den Spielraum der Beweglichkeit normaler Tiere in den einzelnen Viertelstunden während der dreistündigen Versuchsdauer darstellt (vgl. Abb. 6).

Diese Methode wurde zuerst herangezogen zum Vergleich der sedativen Wirkung des Morphins mit einem seiner Derivate: Dihydrodesoxymorphin, dessen zentrale Wirkung die des Morphins nach Eddi und Howes[2] übertreffen soll. Die vergleichende Messung konnte sich hier zunächst auf eine Beobachtung stützen, die bei der früher benutzten Methode zuerst gemacht wurde und jetzt eindeutig bestätigt wurde, das ist die Abhängigkeit der erregenden bzw. der lähmenden Wirkung des Morphins von der beigebrachten Dosis.

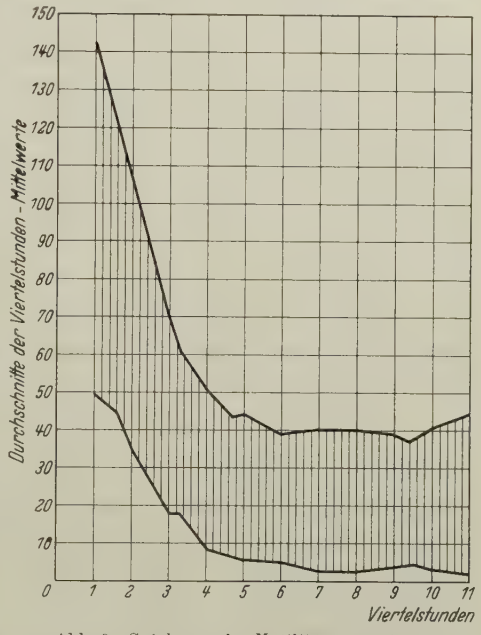


Abb. 6. Spielraum der Motilität normaler Tiere.

Die Verschiedenartigkeit der Morphinwirkung auf die einzelnen Tierarten ist lange bekannt. Bei Pferd, Rind, Ziege, Schwein, Schaf, Katze und bei Fischen entfacht es fast nur Erregung und niemals reversible Narkose. Im Gegensatz dazu scheint bei Hund, Kaninchen, Meerschweinchen, Ratte, Maus und bei den Vögeln die zentrale Lähmung überwiegend zu sein. Am empfindlichsten ist der Mensch (Literatur bei Dott u. Stockman[3, 4], Guinard[5, 6], Froehner[7], Hess[8].)

Hinsichtlich der Morphinwirkung an der Maus ist jedoch zu verweisen auf zahlreiche Untersuchungen, die eine synergistische Wirkung des Morphins mit anderen zentral erregenden Mitteln offenbart haben, so mit Coffein (Haskell, Rücker, Snyder[9]), Pikrotoxin (Pulewka[10]), Strychnin (Stender[11]), Cocain

---

[2] Eddi, N. B., u. H. A. Howes: J. Pharm. exper. Ther. **55**, 257 (1935). — [3] Dott, B. D., u. R. Stockman: Proc. roy. Soc. Edinburgh **17**, 321 (1890). — [4] Stockman, R., u. B. D. Dott: Brit. med. J. **1890**, II, S. 189. — [5] Guinard, L.: La Morphine et l'Apomorphine, Paris 1898. — [6] Guinard, L.: C. r. Soc. Biol. **52**, 727 (1900). — [7] Fröhner, E.: Mh. Tierheilk. **4**, 249 (1893). — [8] Hess: Arch. Tierheilk. **27**, 233 (1901). — [9] Haskell, Ch. C., J. E. Rucker, W. S. Snyder: Arch. int. Med. (Am.) **33**, 314 (1924). — [10] Pulewka, P.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **123**, 259 (1927). — [11] Stender, O.: Ebenda **175**, 396 (1934).

(Eichholtz und Krauth[12]). Für die Katze hat Starkenstein[13] eine Herabsetzung der Morphinaufregung durch Coffein festgestellt.

Wegen des Ineinandergreifens von Lähmungs- und Erregungswirkung bei einigen Tierarten hat man dem Morphin eine zweiphasige Wirkung zugeschrieben, und zwar in dem Sinne, daß bestimmte Morphindosen zuerst ein Lähmungsstadium bewirkten, dem das Erregungsstadium nachfolge. Rübsamen[14] beobachtete an der Ratte nach subcutaner Injektion von 0,15 mg/g Morphinhydrochlorid zunächst Lähmung und dann Erregung.

Joel und Ettinger[15] fanden bei gleicher Tier- und Zuführungsart nach 0,05—0,1 mg/g ebenfalls eine 2—3 Stunden anhaltende Lähmung, gefolgt von einem Stadium der Erregung und endlich Schlaf.

Ganz besonders herausgearbeitet wurde die Theorie der zweiphasigen Wirkung des Morphins an der Maus von Amsler und seinen Mitarbeitern[16]. Sie wurde zur Grundlage einer Erklärung der Morphingewöhnung gemacht. Danach hört die zentralanalgetische Wirkung des Morphins auf in einem Augenblick, in dem dessen volle Wirksamkeit noch vorhanden ist. Auf die corticale Lähmung folgt nicht gleich Wiederherstellung, sondern vorerst noch ein Erregungsstadium, woraus auf eine mehrphasige Wirkung des Morphins in bestimmten Dosen geschlossen wird. Bei gewöhnten Tieren verschwindet die lähmende Phase schließlich ganz, es bleibt nur Erregung übrig und diese setzt fast unmittelbar nach der Injektion ein. Amsler betrachtet die Lähmung als dynamische, die Erregung als statische Wirkung des Morphins.

Mc Guignan und Ross[17] sowie Tamura[18] haben schon früher die Ansicht geäußert, aus dem Morphin werde im Stoffwechsel durch Oxydation ein erregendes Gift erst gebildet. Joel und Ettinger[15] lehnen diese Ansicht ab, weil bei gewöhnten Tieren die Erregung auch sofort nach der Injektion einsetzen kann.

Aus den nachfolgenden Untersuchungen geht jedoch hervor, daß sowohl die Lähmungsphase wie die Erregungsphase auch bei nicht gewöhnten Mäusen meist sofort nach der Injektion auftritt. Die Richtung der Wirkung, ob Erregung oder Lähmung, ist nur abhängig von der Dosis des injizierten Morphins. Das Morphin äußert hierbei Wirkungen schon in sehr kleinen Dosen, von denen ein Einfluß mittels der bisher benutzten Methoden nicht festgestellt werden konnte.

Dem Schrifttum nach gilt als unterste Grenze der Morphinwirksamkeit an Mäusen die Dosis von 0,5 γ/g, von der Straub[19] eine sichere Auslösung der Schwanzreaktion sah. Nur in Einzelfällen ließ sich diese Reaktion für ganz kurze Zeit und nicht voll entwickelt durch 0,25 γ/g nach Herrmann[20] hervorrufen. Sicher wirksam in gleicher Hinsicht sind nach Keil und Kluge[21] 1,25 γ/g, nach Maier[22] 3 γ/g. Dosen von 2,5 γ/g und mehr wirken nach 3—4 Minuten nach Pulewka[10] auf die

[12] Eichholtz, F., u. W. Krauth: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **184**, 667 (1936). — [13] Starkenstein, E.: Ber. Physiol. **36**, 910 (1926). — [14] Rübsamen, W.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **59**, 227 (1908). — [15] Joel, E., u. A. Ettinger: Ebenda **115**, 334 (1926). — [16] Amsler, C.: Ebenda **90**, 257 (1921); **161**, 237 (1931); **166**, 295 (1932); **169**, 246 (1933); P. Weger u. C. Amsler: Ebenda **181** 488 (1936); **183**, 9 (1936); G. Matschulan, Ebenda **186**, 113 (1937); **187**, 230 (1937). — [17] Mc Guignan, H., u. E. L. Ross: J. Pharm. exper. Ther. **7**, 385—405 (1915) (Lit.!). — [18] Tamura, K., Mitt. med. Fak. Tokyo **22**, 121 (1919); **23**, 190 (1920). — [19] Straub, W.: Dtsch. med. Wschr. **37**, 1462 (1911). — [20] Herrmann, O.: Biochem. Z. **39**, 216 (1912). — [21] Keil, W., u. A. Kluge: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **174**, 493 (1933). — [22] Maier, L.: Ebenda **161**, 163 (1931).

Pupille erweiternd. 10—15 γ/g erzeugen nach Brakhage[23] Antidiurese. Bei 50 γ/g konnte Stender[11] außer der positiven Schwanzreaktion keinerlei weiteren Morphineinfluß erkennen.

Die nachfolgenden Untersuchungen machen jedoch ersichtlich, daß auch kleinsten Morphindosen ein zentrallähmender Einfluß mit Sicherheit zukommt.

Morphinum sulfuricum.

An Gruppen von je 10 Tieren wurden folgende Dosen pro g Tier unter die Rückenhaut gespritzt:

0,1, 1, 10, 25, 50, 100 γ.

Die Registrierung der Stromschlüsse begann stets 3—5 Minuten nach der Beibringung des Morphins.

Der Einfluß der verschiedenen Morphindosen auf die absolute Größe der Lauftätigkeit ist aus Tabelle 4 ersichtlich. Darin sind die Dosen und die dazu gehörigen arithmetischen Mittel aus den Gesamtzahlen der Stromschlüsse von je einer Gruppe aus 10 Tieren angegeben.

Tabelle 4.

Morphindosis pro g Tier	0,1 γ	1 γ	10 γ	25 γ	50 γ	100 γ
Mittel aus den Gesamtzahlen der Stromschlüsse von 10 Tieren	16,71	8,7	10,7	47,65	100,98	127,12

Der Vergleich der Stromschlußzahlen der mit Morphin behandelten Tiere mit denen normaler Tiere zeigt, daß diese Zahlen bei Dosen von 0,1—10 γ Morphin unterhalb der Norm, für die Dosis 25 γ im Bereiche der Norm und für 50 und 100 γ wesentlich über der Norm liegen. Es setzen also die kleinen Morphindosen (0,1—10 γ) die gesamte Lauftätigkeit herab, mittlere Dosen (25 γ) haben wenig Einfluß, und größere Dosen (50 und 100 γ) erhöhen die Lauftätigkeit in bedeutendem Umfange. Die stärkste Einschränkung der Lauftätigkeit wird durch die Dosen 1 und 10 γ bewirkt.

Das Verhalten der Tiere ist aus den als Beispiel abgebildeten Originalkurven zu erkennen. Man sieht, daß die kleine Dosis 1 γ/g sofort lähmend wirkt und daß die Lähmung während des ganzen Versuchs anhält. Bei der höheren Dosis 50 γ/g setzt die Erregung sofort nach der Injektion ein. Die Größe der Lauftätigkeit ist anfangs etwas geringer, das Tier ist jedoch ständig in Bewegung und kommt keinen Augenblick zur Ruhe.

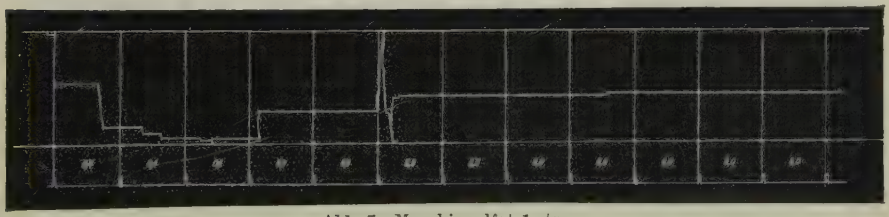


Abb. 7. Morphinsulfat 1 γ/g.

[23] Brakhage, G.: Untersuchungen über Diuresehemmung bei der weißen Maus. Inaug.-Diss. Leipzig 1933.

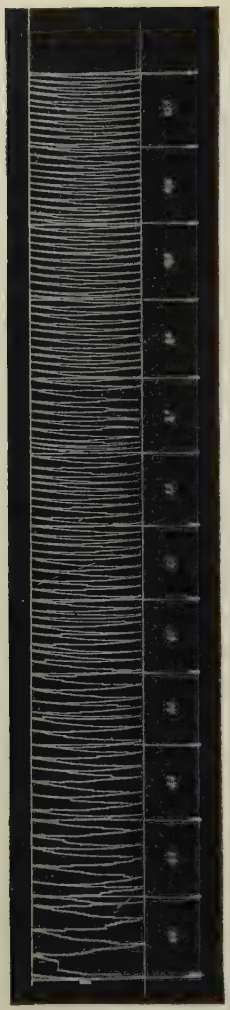


Abb. 8. Morphinsulfat 50 γ/g.

Die Durchschnitte der 11 Viertelstunden-Mittelwerte pro Gruppe zu 10 Tieren sind als einzelne Streckenzüge in der Abb. 9 wiedergegeben.

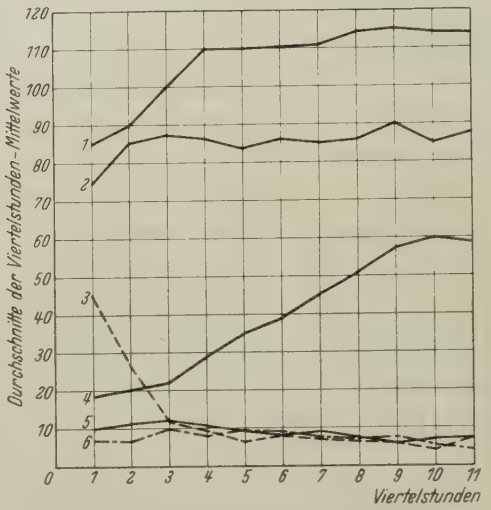


Abb. 9. Durchschnitte der Viertelstunden-Mittelwerte von je 10 Tieren für verschiedene Dosen von Morphinsulfat.
1. 100 γ/g. 2. 50 γ g. 3. 0,1 γ/g. 4. 25 γ/g.
5. 10 γ/g. 6. 1 γ/g.

Die Abbildung zeigt zunächst, daß die Streckenzüge der kleinen Dosen für die erste Stunde außerhalb des Bereiches der Normalbewegung liegen (vgl. Abb. 6). Nur der Streckenzug für die Dosis 25 γ/g liegt zum größeren Teile in diesem Gebiete, schneidet es jedoch in charakteristischem Sinne. Die Dosen, 0,1, 1, sowie 10 γ/g bewirken durchwegs Lähmung. Diese ist bei der kleinsten Dosis erst nach Ablauf einer halben Stunde voll ausgeprägt; bei den am stärksten sedativ wirkenden nächsthöheren Dosen 1 und 10 γ/g stellt sich die Lähmung jedoch sofort nach der Morphingabe in vollem Umfange ein. Die Dosis 25 γ/g ändert zwar den Zahlenwert für die gesamte Lauftätigkeit innerhalb der Versuchsdauer nicht ab, beeinflußt jedoch wesentlich den zeitlichen Ablauf. Im Gegensatz zu normalen Tieren ist die Bewegung der Tiere schon anfangs eingedämmt, sie beginnt jedoch durchschnittlich nach Ablauf von einer halben Stunde in stets stärker werdendem Maße wieder zuzunehmen. Auf die kurzdauernde Lähmung folgt hier wachsende Erregung.

Die höheren Dosen 50 und 100 γ/g führen sofort zu Erregung. Diese erreicht ihren jeweiligen Höhepunkt nach etwa $^3/_4$ Stunden und bleibt für

den Rest der Versuchsdauer auf etwa gleicher Höhe stehen. Es wurde auch die Wirkung noch höherer Dosen geprüft, wobei sich ergab, daß Steigerung der Dosis bis zur mittleren tödlichen Dosis von 500—700 γ/g grundsätzlich das gleiche Bild liefert. Wenn auch der Grad der Erregung etwas abnimmt, so bleiben die Tiere doch in starker Erregung bis zum letzten Atemzug, fallen dann um und sind tot (vgl. Abb. 10).

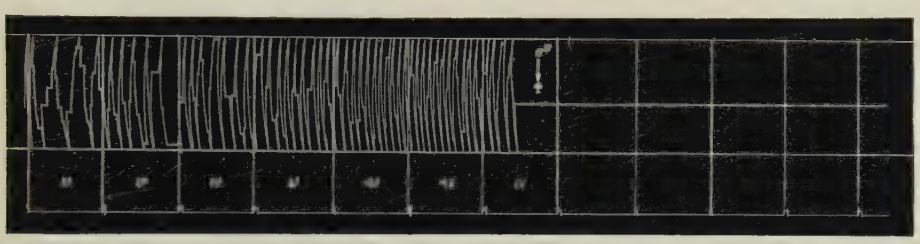


Abb. 10. Maus 20 g. 500 γ/g Morphinsulfat subcutan. (Tödliche Dosis.)

Die Ergebnisse der Versuche zeigen, daß die Morphinwirkung auf die Maus grundsätzlich nicht als zweiphasig — anfangs lähmend und dann erregend — im Sinne von Amsler gedeutet werden darf. In der großen Schar der angestellten Versuchsreihen geht nur bei einer einzigen Dosis, und zwar bei der mittleren (25 γ/g), der ausgesprochenen Erregungswirkung eine kurzdauernde sedative Phase voraus, wie die schon zu Versuchsbeginn subnormale Lauftätigkeit beweist. Der sedative Effekt besitzt jedoch sein Maximum gleich nach der Injektion des Morphins und büßt von da ab ständig an Stärke ein.

Die kleineren Dosen äußern von Anfang bis Ende nur sedative, die großen von Anfang bis Ende nur erregende Wirkung. Der Einfluß der Gewöhnung auf diese Verhältnisse soll noch geprüft werden.

Die Spanne zwischen der sogleich lähmenden und der sogleich erregenden Dosis liegt beim Morphin zwischen 10 und 50 γ/g. Die Schwanzreaktion steht mit der Qualität der Wirkung nicht in Beziehung. Sie gelangte bei allen geprüften Dosen bis herab zu 1 γ/g zur Beobachtung.

Dihydrodesoxymorphinsulfat.

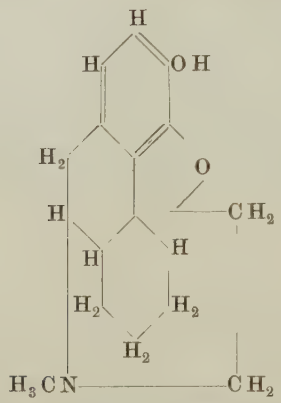
$C_{17}H_{21}O_2N$.

Das Dihydrodesoxymorphin wurde neuerdings von Small[24, 25] dargestellt und vom „Office International d'Hygiêne Publique" Paris Herrn Prof. Straub zur Prüfung übergeben. Pharmakologische Untersuchungen über dieses Alkaloid liegen vor von Eddy und Howes[26], Eddy und

[24] Small, L. T., u. D. E. Morris: J. amer. chem. Soc. **55**, 2874 (1933). — [25] Small, L. T., K. C. Yuen u. L. K. Eilers: Ebenda **55**, 3863 (1933). — [26] Eddy, N. B., u. H. A. Howes: J. Pharm. exper. Ther. **55**, 257 (1935).

Himmelsbach[27] und anderen Autoren. (Literatur bei Anm. 26 und 27) Dabei erwies es sich im Vergleich mit Morphin als mindestens 15mal so stark sedativ wirksam, mehr als 10mal so stark analgetisch und nur 3mal so stark toxisch.

Ich suchte zunächst festzustellen, ob dieses Derivat des Morphins in der Qualität seiner Wirkung ebenso wie das Morphin von der Dosis abhängig war. Zutreffendenfalls war dann zu ermitteln, in welche Höhe die



Spanne zwischen Lähmungs- und Erregungsdosis bei Dihydrodesoxymorphin zu liegen kam, um daraus einen quantitativen Vergleich über die Stärke der zentralen Wirkung dieses Alkaloides mit Morphin ziehen zu können.

Zu diesem Zwecke wurden folgende Dosen Dihydrodesoxymorphinsulfat

0,001, 0,01, 0,05, 0,1, 0,5, 1,0, 5,0, 10,0 γ

pro Gramm Tier je 10 Mäusen subcutan unter die Rückenhaut injiziert*. Die Einwirkung dieser Dosen auf die gesamte Lauftätigkeit ist in Tabelle 5 wiedergegeben.

Tabelle 5.

Dosis pro g Tier	0,001 γ	0,01 γ	0,05 γ	0,1 γ	0,5 γ	1 γ	5 γ	10 γ
Mittel der Gesamtsumme der Stromschlußziffern	18,0	29,5	22,3	14,8	32,7	59,2	118,0	134,2

(Mittel der Gesamtsumme normaler Tiere: 37,2.)

Die Beobachtung der Stromschlußziffern im Vergleich mit denen normaler Tiere ergibt, daß auch bei dem Dihydrodesoxymorphin diese

[27] Eddy, N. B., u. C. K. Himmelsbach: U. S. Publ. Health Reports Suppl. Nr. 118 (1936).

* Neben dem von Snell stammenden Originalpräparat wurde auch das Dihydrodesoxymorphinsulfat der Firma Hoffmann-La Roche u. Co. geprüft. Beide Alkaloide erwiesen sich in ihrer Wirkung als gleichwertig.

Werte nach kleinen Dosen (0,001 –0,1 γ/g) deutlich niedriger als die Normalwerte sind. Die mittleren Dosen (0,5—1 γ/g) liegen nahe am Normalwert oder etwas darüber. Große Dosen (5—10,0 γ/g) liefern Werte, die bedeutend höher sind als die Normalwerte. In vollkommener Analogie mit Morphin setzen also auch beim Dihydrodesoxymorphin kleine Dosen die gesamte Lauftätigkeit herab, mittlere äußern wenig Einfluß und große steigern sie in hohem Grade. Die stärkste Eindämmung der Lauftätigkeit wird durch die Dosis 0,1 γ/g erzielt.

Auf die Wiedergabe von Originallaufkurven kann hier verzichtet werden, da sie im grundsätzlichen mit den von Morphin gewonnenen übereinstimmen.

Das gesetzmäßige besondere Verhalten der einzelnen Gruppen unter den verschiedenen Dosen von Dihydrodesoxymorphin geht hervor aus der Abb. 11, in der die Durchschnitte der 11 Viertelstundenmittelwerte pro Gruppe von 10 Tieren wiedergegeben sind.

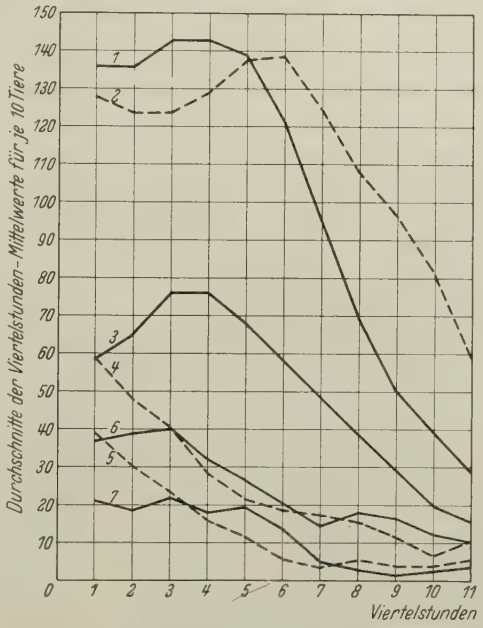


Abb. 11. Durchschnitte der Viertelstunden-Mittelwerte von je 10 Tieren für verschiedene Dosen von Dihydrodesoxymorphinsulfat. 1. 5 γ/g. 2. 10 γ/g. 3. 1 γ/g. 4. 0,5 γ/g. 5. 0,001 γ/g. 6. 0,01 γ/g. 7. 0,1 γ/g.

Es ist sofort kenntlich, daß ebenso wie beim Morphin die Streckenzüge der hohen Dosen sich deutlich von denen mittlerer und kleiner Dosen abheben. In auffallendem Gegensatz zu Morphin verlaufen jedoch die Streckenzüge nicht stetig, sondern weisen bei fast allen eine Richtungsänderung auf, die bei den kleineren Dosen um das Ende der ersten Versuchsstunde eintritt, bei den großen Dosen etwas später. Diese Richtungsänderung im Sinne einer abnehmenden Lauftätigkeit kann bei den schon vorher abwärts laufenden Streckenzügen naturgemäß nicht zum Ausdruck kommen.

Die Richtungsänderung der Streckenzüge besagt, daß die Wirkung des Dihydrodesoxymorphins zunächst von erregender Art ist und erst später in eine sedative übergeht. Ausnahmen bilden die mittlere Dosis 0,5 γ/g und die kleinste Dosis 0,001 γ/g. Der Streckenzug für 0,5 γ/g entspricht in Neigungswinkel und Kurvenverlauf ganz einer Normalkurve. Bei dem Streckenzug für die Minimaldosis 0,001 γ/g kommt die anfänglich erregende Phase dennoch darin zum Ausdruck, daß die Kurve zuerst flacher verläuft,

und sich somit deutlich von den steiler abfallenden Normalkurven unterscheidet. Die sedative Wirkung tritt auch bei dieser Dosis im weiteren Verlaufe immer deutlicher hervor.

Beim Dihydrodesoxymorphin geht also der sedativen Wirkungsphase grundsätzlich eine Art Exzitationsstadium voraus. Da dieses in seiner Dauer nahezu unabhängig von der beigebrachten Alkaloiddosis ist, darf die Vermutung geäußert werden, daß das Dihydrodesoxymorphin erst im Stoffwechsel zu einer Substanz mit sedativer Wirkung umgewandelt wird. Jedenfalls kommt es niemals zu einem wesentlichen Wiederanstieg im Kurvenverlauf. Die stärkste sedative Wirkung wird beim Dihydrodesoxymorphin von der Dosis 0,1 γ/g entfaltet.

Die Schwanzreaktion ist ganz wie beim Morphin auch beim Dihydrodesoxymorphin von der Qualität der Wirkung unabhängig. Entsprechend der stärkeren Wirksamkeit des Dihydrodesoxymorphins wurde sie noch nach Dosen von 0,05 γ/g beobachtet.

Vergleich der Wirkungsstärke von Morphin und Dihydrodesoxymorphin.

Tabelle 6. Einfluß der Dosierung von Morphin und Dihydrodesoxymorphin auf die Lauftätigkeit von Mäusen.

Morphinsulfat		Dihydrodesoxymorphinsulfat	
Dosis pro g Tier γ	Gesamte Lauftätigkeit. Mittelwerte aus je 10 Tieren	Dosis pro g Tier γ	Gesamte Lauftätigkeit. Mittelwerte aus je 10 Tieren
100	127,1	10	134,2
50	101,0	5	118,0
25	47,6		
10	10,7	1	59,2
		0,5	32,7
1	8,7	0,1	14,8
		0.05	22,3
0,1	16,7	0,01	29,5
		0,001	18,0

Vergleicht man die Einwirkung der beiden Alkaloide, Morphin und Dihydrodesoxymorphin, auf die gesamte Lauftätigkeit der Maus (Tabelle 6, sowie Abb. 12), so zeigt sich zunächst, daß die einzelnen Dosen, die zu einer annähernd gleichen, beträchtlichen Steigerung der Lauftätigkeit führen, bei Morphin und Dihydrodesoxymorphin sich wie 10 : 1 verhalten. In gleichem Verhältnis zueinander steht die Dosis der beiden Alkaloide, die jeweils am stärksten sedativ wirkt (1 γ/g Morphin und 0,1 γ/g Dihydrodesoxymorphin). Die Lauftätigkeit innerhalb der ganzen Versuchsdauer wird zwar beim Dihydrodesoxymorphin nicht ganz so weit herabgesetzt wie beim Morphin, was lediglich von der anfangs erregenden Wirkung des Dihydrodesoxymorphins herrührt. Ebenso sind die Abweichungen vom Verhältnis 10 : 1 bei den mittleren Dosen durch den anfänglich erregenden Einfluß des Dihydrodesoxymorphins zu erklären; die entsprechenden Werte sind beim Dihydrodesoxymorphin höher.

Vergleicht man jedoch den Verlauf der Streckenzüge der Viertelstundenmittelwerte der beiden Alkaloide miteinander (Abb. 9 und 11), so zeigt sich deutlich, daß nach Abklingen der erregenden Anfangswirkung das Dihydrodesoxymorphin eine sedative Wirkung entfaltet, die die Lähmungswirkung des Morphins übertrifft, und selbst bei Herabsetzung der Dosis auf 0,001 γ/g noch zum Vorschein kommt.

Die Spanne zwischen der sogleich lähmenden und der sogleich erregenden Dosis liegt beim Morphin zwischen 10 γ und 50 γ/g; bei dem Dihydrodesoxymorphin liegt sie zwischen den 10fach kleineren Werten 1 und 5 γ/g.

Sowohl in seinem erregenden wie in seinem sedativen Einfluß kann daher das Dihydrodesoxymorphin als mindestens 10mal so stark wirksam wie das Morphin bewertet werden.

Die Schwanzreaktion gelangte beim Morphin bis herab zur Dosis 1 γ/g, beim Dihydrodesoxymorphin bis zur Dosis 0,05 γ/g zur Beobachtung.

Die Qualität der Wirkung, ob Erregung oder Lähmung, steht mit der analgetischen Wirkung bei beiden Alkaloiden in keinerlei Zusammenhang, wie aus der Prüfung ihres analgetischen Einflusses mittels neuer Methode, die zur Zeit durchgeführt wird, hervorgeht.

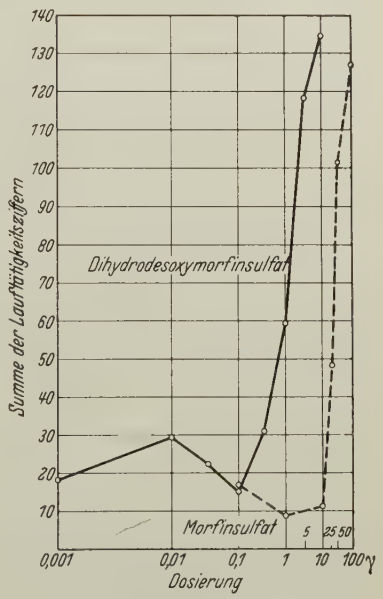


Abb. 12. Vergleich der Abhängigkeit der Lauftätigkeit von der Dosierung. Morphin und Dihydrodesoxymorphin.

Zusammenfassung.

Es wird eine Methode beschrieben, die es gestattet, die Lauftätigkeit freibeweglicher Mäuse fortlaufend quantitativ zu registrieren. Sie verfolgt den Zweck, den Einfluß zentralerregender sowie zentrallähmender Stoffe nach dem Ausmaß der durch sie veränderten Lauftätigkeit zu jedem Zeitpunkt innerhalb einer beliebig lang auszudehnenden Versuchsdauer quantitativ zu bestimmen.

Die Methode wurde herangezogen um die zentrale Wirkung des Morphins an Mäusen in verschiedenen Dosen qualitativ und quantitativ festzulegen und mit der entsprechenden Wirkung des Dihydrodesoxymorphins zu vergleichen.

Ergebnis: Die Ansicht von Amsler, die zentrale Wirkung des Morphins sei zweiphasig, und es folge einer primären Lähmung eine Erregung stets nach, kann nicht bestätigt werden. Die Qualität der Wirkung hängt lediglich von der Dosierung ab. Kleine Morphindosen (0,1—10 γ/g sub-

cutan) äußern lediglich Lähmungswirkung, die sofort nach der Injektion einsetzt und während der Versuchsdauer von 3 Stunden sich nicht ändert. Größere Dosen (von 50 γ/g aufwärts) führen von Anfang an nur zu Erregung. Selbst nach tödlichen Dosen (500–700 γ/g) bleiben die Tiere in ständiger Erregung bis zum letzten Atemzug. Die am stärksten sedativ wirksame Morphindosis für die Maus beträgt 1 γ/g subcutan.

Das Dihydrodesoxymorphin ist etwa 10mal so stark zentral wirksam wie das Morphin. Diese Wirkung des Dihydrodesoxymorphins ist an der Maus ausgesprochen zweiphasig. Gleich nach der Injektion zeigt sich eine Erregungswirkung, die etwa 1 Stunde lang anhält und dann ziemlich plötzlich umschlägt in eine Lähmungswirkung, die dann weiterhin an Größe noch zunimmt. Der Grad der anfänglichen Erregung steigt mit der Höhe der Dosis. Die plötzliche Änderung der Qualität der Wirkung des Dihydrodesoyxmorphins läßt vermuten, daß dieses Alkaloid erst im Organismus zu einer Substanz mit sedativem Effekt umgewandelt wird. Die am stärksten sedativ wirksame Dosis des Dihydrodesoxymorphins beträgt 0,1 γ/g.

Mit dem analgetischen Einfluß der beiden Alkaloide steht die Qualität der gemessenen Wirkung, gleichgültig, ob diese erregend oder lähmend ist, bei beiden Alkaloiden in keinem Zusammenhang, wie aus im Gange befindlichen Versuchen bereits erkannt werden konnte.

(Aus der Physikalisch-chemischen Abteilung des Instituto Butantan in Sao Paulo, Brasilien.)

Biochemische Studien über die Gifte der Schlangengattung Bothrops.

VI. Mitteilung: Kurzer Bericht über verschiedene, in den Jahren 1936—37 gewonnene Versuchsergebnisse.

Von

D. von Klobusitzky (z. Zt. am Instituto Biologico) und **P. König.**

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 26. November 1938.)

Unter dem oben angeführten Titel haben wir i. J. 1935 — in der Absicht, das von uns gewählte Thema in mehreren Jahren ausführlich zu behandeln — eine Mitteilungsserie über das Gift der B. jararaca begonnen, von der bis jetzt fünf Teile erschienen sind[1-5]. Eine jede dieser Mitteilungen war einer streng umschriebenen Frage gewidmet, wodurch verschiedene Versuchsresultate und -beobachtungen nicht zur Veröffentlichung kamen, weil sie nicht in den Rahmen der betreffenden Mitteilung hineinpaßten. Durch unser im Februar bzw. Juli d. J. erfolgtes Ausscheiden aus dem Instituto Butantan sind wir nicht mehr in der Lage für die weiteren Untersuchungen unentbehrliches Rohmaterial in ausreichender Menge zu bekommen, so daß wir uns notgedrungenerweise genötigt sehen von einer Fortsetzung unserer Arbeit abzusehen. Aus dem Grunde haben wir den Entschluß gefaßt, diejenigen unserer Versuchsergebnisse, welche aus dem oben angegebenen Motiv bis jetzt nicht veröffentlicht wurden, an dieser Stelle erscheinen zu lassen, womit wir einzig und allein das Ziel verfolgen, gewisse Daten und Beobachtungen den Fachgenossen zur Verfügung zu stellen. Aus dem Ziel der vorliegenden Mitteilung folgt, daß wir uns jedes theoretischen Kommentars oder einer Polemik enthalten.

1. Verhalten beim Trocknen.

Das Rohgift, welches wir zu den Untersuchungen verwendet haben, war bei 37° getrocknet. Um das noch darin vorhandene Wasser zu bestimmen, wurde ein Teil bei 105°, ein anderer Teil bei 37° über H_2SO_4 im Vakuumexsikkator (Druck: 1 mm Hg) weitergetrocknet. Diese Bestimmungen lieferten die folgenden Resultate:

---

[1] Klobusitzky, D. von: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **179**, 204 (1935). — [2] Klobusitzky, D. von: Ebenda **180**, 479 (1936). — [3] Klobusitzky, D. von, u. P. König: Ebenda **181**, 387 (1936). — [4] Klobusitzky, D. von, u. P. König: Ebenda **182**, 577 (1936). — [5] Klobusitzky, D. von, u. P. König: Z. physiol. Chem. **255**, 1 (1938).

Bei 105° getrocknet.

	Gewichtsänderung
Nach 20 Stunden	— 11,66% (Probe 1)
	— 11,52% (Probe 2)
Nach weiteren 48 Stunden	+ 0,43% (Probe 1)
	+ 0,53% (Probe 2)

Bei 37° getrocknet.

Nach 5 Tagen	— 6,84% (Probe 3)
	— 6,75% (Probe 4)
Nach weiteren 3 Tagen	— 0,01% (Probe 3)
	0,00% (Probe 4)

2. Gesamtstickstoffgehalt des Rohgiftes.

Diese Bestimmungen, sowie die des Reststickstoffs wurden mit Hilfe der Mikro-Kjeldahl-Methode jodometrisch durchgeführt.

Das Rohmaterial besteht größtenteils aus citronen- bis orangegelb gefärbten Partikelchen, ein geringer Teil ist jedoch dunkelbraun verfärbt. In bezug auf Löslichkeit und toxische Wirkung konnten wir zwischen den gelben und braunen Partikelchen keinen nennenswerten Unterschied finden. Der Stickstoffgehalt wurde einerseits in dem gemischten Rohgift, andererseits nur in ausgesuchten hellgelben bzw. dunkelbraunen Partikelchen bestimmt.

a) Gemischtes Gift.

Mittelwert aus 6 Proben	12,04%
Niedrigster Wert	11,90%
Höchster Wert	12,40%

b) Ausgesuchte Partikelchen.

Nur helle Partikelchen	12,10%
Nur dunkle Partikelchen	11,78%

3. Reststickstoffbestimmungen.

Das Enteiweißen der nativen Giftlösung wurde entweder auf dem Wege der Hitzedenaturierung oder durch Fällung mittels 20%iger Sulfosalycylsäure durchgeführt. Die Bestimmungen ergaben die folgenden Mittelwerte:

	Auf das gewöhnliche Ausgangsmaterial berechnet:	Auf das wasserfreie Rohgift berechnet:
Hitzedenaturierung	3,93 g %	4,40 g %
Sulfosalicylsäure-Fällung	1,17 g %	1,64 g %

4. Gewichtsverlust durch Enteiweißen (auf Trockengehalt berechnet).

Hitzedenaturierung bei 70°	42,02%	Auf wasserfreies Gift berechnet.
Hitzedenaturierung bei Siedehitze	57,20%	
Sulfosalicylsäure-Fällung	64,93%	

5. Chloroformextrakt (nach Soxleth bestimmt).

Probe 1	0,31%	nicht auf wasserfreies Gift berechnet.
Probe 2	0,50%	

6. Sauerstoffverbrauch.

100 g natives (nicht wasserfreies) Gift verbrauchen	1169,5 ccm	N/1 $KMnO_4$
100 g Bothropotoxin verbrauchen	802,2 ccm	N/1 $KMnO_4$
100 g methyliertes Bothropotoxin verbrauchen	2270,0 ccm	N/1 $KMnO_4$

7. Erhöhung der Giftigkeit durch Dialyse und durch Fällung mittels koll. $Fe(OH)_3$.

Dialysiert man im Kühlraum (bei 4—5°) eine Giftlösung gegen zweimal pro Tag gewechseltem dest. Wasser, so wird die kleinste tödliche Dosis (k. t. D.) des Giftes auf Gewichtseinheit berechnet geringer. Wir haben als Dialysiermembran entweder Pergament, oder Cellophan verwendet. Als Beispiel hierfür führen wir die folgenden Ergebnisse an:

Vor der Dialyse	k. t. D. pro Taube mg	Verlust auf Volumen berechnet %
Vor der Dialyse	0,12	
Nach 25tägiger Dialyse	0,06	0,00
Vor der Dialyse	0,08	
Nach 10tägiger Dialyse	0,06	0,00

Gewichtsverlust durch Dialyse:

	Gewicht g	k. t. D. pro Taube mg	Insgesamt enthält k. t. D.
Vor der Dialyse	10,000	0,08	125000
Nach 10tägiger Dialyse	6,485	0,06	125000

Verlust an Gewicht: 3,515 g = 35,15 Prozent.

Eine weitere Zunahme der pro Gewichtseinheit berechneten Giftigkeit ließ sich in diesem Falle durch Dialyse nicht, wohl aber durch Fällung mittels kolloidalem $Fe(OH)_3$ erreichen. Die genannte Probe wurde mit dest. Wasser auf 1000 ccm verdünnt und mit 3,1 ccm frisch bereitetem kolloidalem $Fe(OH)_3$ versetzt. Es entstand ein voluminöser Niederschlag, wobei die auf das Gesamtvolumen berechnete Toxizität der klaren Flüssigkeit unverändert blieb. Erst nach Hinzufügung von weiteren 3,8 ccm Eisenhydroxyd ist ein Verlust an der toxischen Wirkung eingetreten.

8. Überführungsversuche.

Die Bestimmungen wurden bei der Selbstreaktion der nativen Lösungen (p_H 6,0) nach dem folgenden Prinzip durchgeführt*: An Stelle eines Überführungsgefäßes (U-Rohr, Küvette, Glasplatte nach v. Szent-Györgyi, usw.) verwendeten wir Streifen mittelharten Filtrierpapiers von den Ausmaßen 1×5 cm, deren beide Enden mit einer Gleichstromquelle von 110 Volt über einen regulierbaren Widerstand verbunden waren.

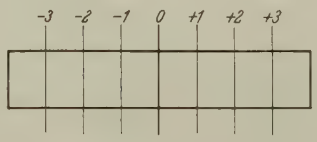
* Ausführliche Beschreibung der Methode bei P. König: Actas e trabalhos do Terceiro Congresso Sul-Americano de Chimica, Rio de Janeiro e São Paulo, **2**, 334 (1937).

In die Mitte, vorher durch einen Kreis bezeichnete Stelle der Streifen (die Mitte der in der Abbildung mit 0 bezeichneten Linie wurde — nachdem vorher dieselben mit einer verdünnten Elektrolytlösung befeuchtet worden sind — je ein Tropfen der zu untersuchenden Lösung gegeben. 20 Minuten nach Einschalten des Stromes wird bei einem Streifen der Stromdurchgang unterbrochen und der Streifen von der Mitte des Kreises angefangen der Breite nach zerschnitten. Jedes einzelne Stück wird (eventuell in weiter zerkleinerter Form) separat ausgewaschen und die Lösung hinsichtlich ihrer gerinnungsfördernden Eigenschaft geprüft*. Bei den übrigen Streifen wird der Strom nach verschiedenen Zeitabschnitten ausgeschaltet. Selbstverständlich muß dafür gesorgt werden, daß während der ganzen Überführung tatsächlich ein Stromdurchgang stattfindet. Das geschieht einerseits durch Kontrolle mittels eines Milliampéremeters, andererseits durch ein fallweises Befeuchten des Streifens mit Elektrolytlösung. Noch besser ist es, den Papierstreifen zwischen zwei Objektivträgern einzuklemmen, um auf diese Weise ein Verdampfen des Lösungsmittels (Wassers) zu vermeiden.

Die Versuche bestätigten unsere früheren Befunde über die negative Ladung des Rohgiftes sowie der gerinnungsfördernden Substanz, was darauf hinweist, daß die Ladung des Filtrierpapiers in diesem Falle keinen Einfluß auf die Wanderungsrichtung ausgeübt hat.

Uns schien dieses Verfahren, welches wir seinerzeit Elektro-Kapillarisation benannt haben, interessant genug zu sein, um seine Brauchbarkeit auf allgemeine Anwendbarkeit zu prüfen. Über diese, hauptsächlich an Gemischen von Farbstofflösungen und von gerinnungsfördernden Lösungen durchgeführten Versuche wollen wir an anderer Stelle berichten, hier sollen nur einige, mit dem nativen Gift und mit einer Hämocoagulase-Lösung durchgeführten Experimente, erwähnt werden (siehe Abb. 1).

Abb. 1.



a) Native Giftlösung.

I. Dauer der Überführung: 2 Stunden. Die Striche bedeuten die Schnittstellen. — 3 gerinnt in einigen Stunden; — 2 gerinnt in 19 Minuten; — 1 gerinnt in 9 Minuten. + 1 gerinnt in 4 Minuten 30 Sekunden; + 2 gerinnt in 3 Minuten; + 3 gerinnt in 61 Minuten. [1 ccm Lösung + 1 ccm 0,3 % $(COONa)_2$-haltiges Blut.]

b) Haemocoagulaselösung**.

II. Dauer der Überführung: 1 Stunde. Die Striche bedeuten die Schnittstellen. — 3 gerinnt nicht in 24 Stunden; — 2 gerinnt in 4 Stunden; — 1 gerinnt in 4 Minuten; + 1 gerinnt in 2 Minuten; + 2 gerinnt innerhalb 1 Minute; + 3 gerinnt nicht in 24 Stunden. (Mengenverhältnisse wie beim nativen Gift).

* Wegen der großen Verdünnung mußten wir von der Feststellung der toxischen Wirksamkeit absehen.

** Als Haemocoagulase bezeichneten wir die gereinigte gerinnungsfördernde Substanz, die wir früher aus dem oativen Gift herstellten (siehe unter 3.).

9. Versuche mit dem Farbstoff.

a) Löslichkeit.

Der gelbe Farbstoff des Jararaca-Giftes löst sich gut in Wasser und Methylalkohol, weniger gut in Äthylalkohol, ist unlöslich in Aceton, Methyl-Äthylketon, Kohlenstofftetrachlorid Benzol und Propylalkohol. Die wässerige Lösung reagiert sauer. In Chloroform ist nur, wie früher schon berichtet wurde, ein Teil des Farbstoffkomplexes löslich.

b) Elektrische Ladung und Dialysierbarkeit.

Bei der Reaktion der Rohgiftlösung, d. h. bei p_H 6,0 wandert der Farbstoff anodisch. Derselbe passiert Pergament- und Cellophanmembrane.

c) Kristallisierbarkeit.

Der durch Methylalkohol extrahierte Farbstoff ist mit Mineralstoffen, hauptsächlich mit NaCl verunreinigt. Eingedampft erscheint derselbe unter dem Mikroskop als lichtbraunes, amorphes Pulver. Der größte Teil der Mineralstoffe läßt sich durch Ausfrieren bei -10^0 entfernen, wobei der Farbstoff in Lösung bleibt. Eine wässerige Lösung des Farbstoffes gibt weder mit Gold-, noch mit Platinchlorid einen Niederschlag. Wir haben versucht den Farbstoffkomplex an Frankonit KL, Kaolin und Aluminiumoxyd zu chromatographieren, ohne eine Trennung in verschiedene Schichten erreicht zu haben.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Marburg.

Änderung der Acetylcholinwirkung durch Adsorption an Eiweißkörper.

Von

Fritz Heim.

Mit 6 Textabbildungen.

(Eingegangen am 28. Dezember 1938.)

Auf Grund der Untersuchungen von Löwi[1], Dale[2] und Mitarbeitern kann das Acetylcholin als der humurale Überträgerstoff der Vaguswirkung angesehen werden. Das Acetylcholin wird sehr wahrscheinlich während der Nervenerregung an den Enden cholinergischer Nervenfasern im Erfolgsorgan gebildet und von dort an die Gewebsflüssigkeit bzw. an das Blut abgegeben. Durch die Untersuchungen von Gremels[3] ist der Wirkungsmechanismus des Acetylcholins als eines Potentialstoffs im Sinne der Straubschen Theorie der Potentialwirkungen geklärt worden. Ein Potentialstoff wirkt gemäß der Definition von W. Straub[4] „durch den Ausgleich eines bestimmtwertigen Konzentrationspotentials in der Richtung zum Zellinnern hin". Für die Wirkungsstärke eines Potentialstoffs ist demgemäß die Höhe des jeweiligen Konzentrationspotentials zwischen der die Zelle umgebenden Außenflüssigkeit und dem Zellinnern maßgebend. Für die Geschwindigkeit der Wirkung, d. h. für die Zeit, die vom Augenblick der Zugabe bis zum Eintritt der stärksten Wirkung vergeht, ist die Geschwindigkeit maßgebend, mit der das größtmöglichste Acetylcholinkonzentrationspotential am Wirkungsort gebildet werden kann. Die Dauer der Wirkung ist abhängig von der Geschwindigkeit, mit der sich das Konzentrationspotential zwischen der Umgebung der Zelle und dem Zellinnern auszugleichen vermag, und außerdem von der Schnelligkeit des Abbaus des Acetylcholins durch das sowohl im Zellinnern als auch in der Gewebsflüssigkeit und im Blut vorhandene Esteraseferment.

Da das an den Nervenenden gebildete Acetylcholin in ein Milieu abgegeben wird, das durch seinen hohen Gehalt an Kolloider sehr große zur Adsorption befähigte Oberflächen besitzt, erhebt sich die Frage, ob das Acetylcholin, ebenso wie eine große Reihe anderer körpereigener Wirkstoffe, vor seinem Wirksamwerden, d. h. vor seinem Eindringen in die Zellen, an die Gewebs- und Blutkolloide adsorbiert wird, und ob durch die vorausgegangene Adsorption der Wirkungscharakter des Acetylcholins Änderungen erfährt.

[1] Pflügers Arch. **189**, 239 (1921); **193**, 201 (1922). — [2] Brit. med. J. 1934. — [3] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **179**, 360 (1935). — [4] Pflügers Arch. **119**, 127 (1907).

Zur Klärung dieser Frage ist das nach Straub isolierte Froschherz besonders geeignet, weil es sowohl mit eiweißfreier isotonischer Salzlösung in der Zusammensetzung der Ringerlösung als auch mit einer eiweißhaltigen Ringerlösung in Tätigkeit gehalten werden kann.

Methodik.

Zum Straubschen Herzpräparat wurden große männliche Eskulenten verwandt. Der Kanüleninhalt betrug stets 1 ccm. Das der Nährflüssigkeit zugesetzte „Albumin aus Blut" von Schering-Kahlbaum wurde im Schüttelapparat solange mit Ringerlösung geschüttelt, bis eine kolloidale Eiweiß-Ringerlösung entstanden war. Das benutzte Serum stammte aus Schweine- bzw. Hundeblut.

Versuche.

Die zunächst mitgeteilten Versuche sollen über die Änderungen der Wirkungsintensität von Acetylcholin, die in Gegenwart von Serumalbumin

Abb. 1. A: 1 ccm Ringerlösung. — B: 1,5 mg Serumalbumin in 1 ccm Ringerlösung. C: 3,0 mg Serumalbumin in 1 ccm Ringerlösung.

bzw. von dem aus Schweine- oder Hundeblut gewonnenen Serum zu beobachten sind, Aufschluß geben. An Hand des in Abb. 1 wiedergegebenen Versuchs kann die Abhängigkeit der Wirkungsintensität gleich großer Acetylcholinmengen von der jeweils in der Nährflüssigkeit enthaltenen Eiweißkonzentration gezeigt werden. Im Anfangsteil der Abbildung wurden im Abstand von 10 Minuten der aus 1 ccm Ringerlösung bestehenden Nährflüssigkeit jeweils 0,05 γ Acetylcholin zugesetzt. Auf beide Zugaben antwortet die Kammer mit einem vorübergehenden Stillstand. Aus dem weiteren Verlauf der Abbildung ist dann zu ersehen, daß in Gegenwart

von 1,5 mg Serumalbumin in der Nährflüssigkeit die Wirkungsintensität und Dauer der ersten 0,05 γ Acetylcholin deutlich abgeschwächt ist, während die 10 Minuten später erfolgte Zugabe der gleichen Menge Acetylcholin sich in ihrer Wirkungsstärke bereits nicht mehr von der in eiweißfreier reiner Ringerlösung unterscheidet. Verdoppelt man die Eiweißkonzentration der Nährflüssigkeit auf 3 mg Eiweiß in 1 ccm Ringerlösung, so sind die ersten 0,05 γ Acetylcholin im Augenblick der Zugabe praktisch ohne jede Wirkung. Die Wirkung des Acetylcholins kommt einzig in einer im Verlauf der nächsten 10 Minuten zu beobachtenden geringen Abnahme der Hubhöhe zum Ausdruck. Der Einfluß des Serumalbumins auf die Wirkungsintensität der zweiten Zugabe von 0,05 γ Acetylcholin ist dagegen

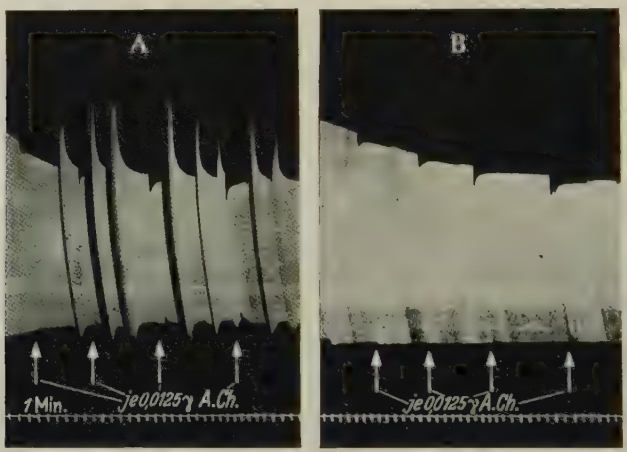


Abb. 2. A: 1 ccm Ringerlösung. — B: 1,5 mg Serumalbumin in 1 ccm Ringerlösung.

gering. Doch ist die Dauer des Kammerstillstands gegenüber der im Vorversuch um 50 Sekunden kürzer und die Abnahme der Hubhöhe im Verlauf der nächsten 10 Minuten geringer. Der Versuch hat gezeigt, daß mit zunehmendem Eiweißgehalt der Nährflüssigkeit die Wirkungsintensität gleich großer Acetylcholinmengen abnimmt. Doch ist z. B. in Gegenwart von 0,3 % Serumalbumin die erste Zugabe von 0,05 γ Acetylcholin fast wirkungslos, während die 10 Minuten nach der ersten erfolgte Zugabe einer gleichen Acetylcholinmenge nur in geringem Maße beeinflußt wird. Daß für den Grad der Beeinflussung der Wirkungsintensität das Verhältnis der in der Nährflüssigkeit vorhandenen Eiweißmenge zu der zugeführten Acetylcholinmenge den Ausschlag gibt, soll der in Abb. 2 wiedergegebene Versuch bestätigen, in dem relativ gering wirksame Acetylcholinmengen zur Anwendung kamen. Aus dem Anfangsteil der Abbildung ist die negativ inotrope Wirkung von 0,015 γ Acetylcholin zu ersehen, das in gleichen zeitlichen Abständen mehrmals der aus Ringerlösung bestehenden Nährflüssigkeit zugesetzt wurde. Die gleichen Acetylcholinmengen in gleichen

zeitlichen Abständen wurden im weiteren Verlauf des Versuchs der 1,5 mg Serumalbumin enthaltenden Nährflüssigkeit zugegeben. Während im Vorversuch auf jede der Acetylcholinzugaben ein ein- oder zweimaliger

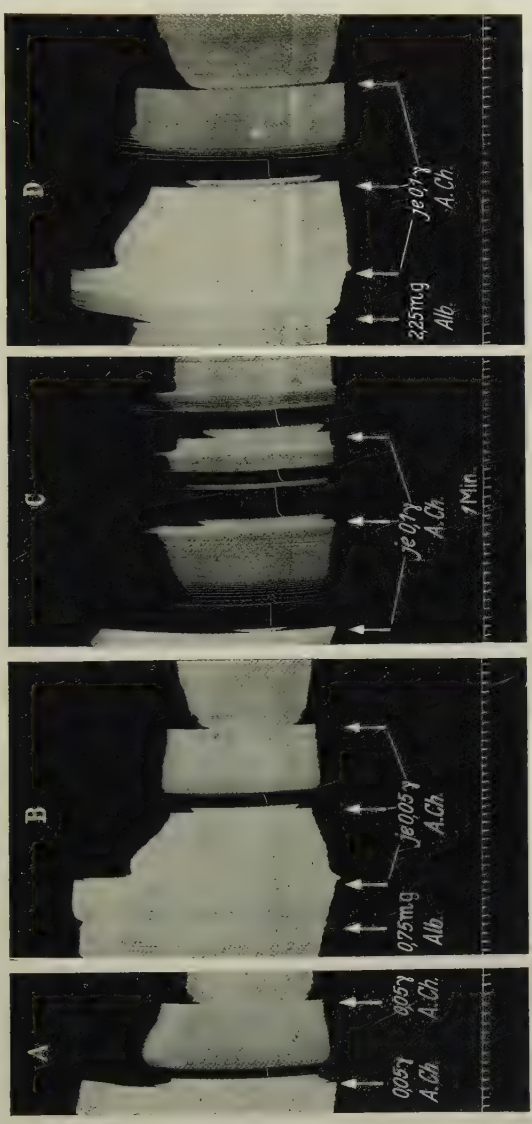


Abb. 3. A: 1 ccm Ringerlösung. — B: 0,75 mg Serumalbumin in 1 ccm Ringerlösung. C: 1 ccm Ringerlösung. D: 2,25 mg Serumalbumin in 1 ccm Ringerlösung.

kurzer Kammerstillstand eintritt, äußert sich die negativ inotrope Wirkung der gleichen Acetylcholinmengen in Gegenwart von Serumeiweiß in der Nährflüssigkeit nur in einer langsamen Abnahme der Hubhöhen der Kammer. Es erstreckt sich also in diesem Versuch der Einfluß des in der Nährflüssig-

keit enthaltenen Eiweißes über die erste Zugabe von Acetylcholin hinaus auch auf die folgenden, also auf insgesamt 0,06 γ Acetylcholin. Vergleicht man in Abb. 3 die Wirkungsstärke von 0,05 γ Acetylcholin vor und nach der Zugabe von 0,75 mg Serumalbumin zur Nährflüssigkeit, so erkennt man, daß in Gegenwart des Eiweißes die negativ inotrope Wirkung der zweiten und dritten Zugabe von je 0,05 γ Acetylcholin nahezu vollkommen der Wirkung entsprechen, die vor der Zugabe des Eiweißes zur Ringerlösung die erste und zweite Zugabe von 0,05 γ Acetylcholin auszuüben vermochten. Vergleicht man weiterhin die Wirkung der doppelten Acetylcholinmenge, also von 0,1 γ Acetylcholin, vor und in Gegenwart von 2,25 mg Serumalbumin, so gleicht abermals in ihrer Wirkung die zweite Zugabe von 0,1 γ Acetylcholin der der ersten Zugabe der gleichen Menge zur reinen Ringerlösung. Es ist außerdem zu erkennen, daß sich 0,05 γ Acetylcholin in Gegenwart von 0,75 mg Serumalbumin und 0,1 γ Acetylcholin in Gegenwart von 2,25 mg Serumalbumin hinsichtlich ihrer Wirkung auf die Kontraktilität der Kammer fast gleich verhalten, während die entsprechenden Dosen Acetylcholin reiner Ringerlösung zugesetzt entsprechend der Dosengröße auch eine ganz verschieden starke negativ inotrope Wirkung auf das Herz ausgeübt haben. Aus letzterer Beobachtung geht hervor, daß die Intensität der Acetylcholinwirkung nicht von der zugeführten absoluten Acetylcholinmenge, sondern wie es scheint von der Konzentration der freien gelösten Acetylcholinmoleküle bestimmt wird. Denn es ist durchaus möglich, daß die Konzentration der freien Acetylcholinmoleküle nach der Zugabe von 0,05 γ Acetylcholin in Gegenwart von 0,75 mg Eiweiß und nach Zugabe von 0,1 γ Acetylcholin in Gegenwart von 2,25 mg Eiweiß die gleiche ist, denn es nimmt, wie wir in Abb. 1 zeigen konnten, mit steigender Eiweißkonzentration auch die an das Kolloid adsorbierte Acetylcholinmenge zu, und es ist außerdem zu berücksichtigen, daß mit Erhöhung der Konzentration eines Stoffes auch seine Adsorption an das Adsorbens zunimmt.

Die folgenden Versuche sollen darüber Aufschluß geben, welchen Einfluß die Gegenwart von Serumeiweißkörpern in der Nährflüssigkeit auf die Wirkungsgeschwindigkeit des Acetylcholins ausübt. Wir haben die Wirkungsgeschwindigkeit als die Zeit bezeichnet, die vergeht vom Augenblick der Zugabe des Acetylcholins zum Kanüleninhalt an bis zum Eintritt der stärksten Wirkung. Aus den Abb. 1—4 geht hervor, daß diese Zeit, wenn man reine Ringerlösung als Nährflüssigkeit verwendet, sehr kurz ist. Es tritt meist im Verlauf weniger Sekunden und spätestens innerhalb einer Minute nach Zugabe des Acetylcholins das Wirkungsmaximum auf. Wie ebenfalls aus den Abb. 1—4 zu ersehen ist, tritt in Gegenwart von Eiweiß das Wirkungsmaximum nicht in unmittelbarem Anschluß an die Zugabe des Acetylcholins zum Kanüleninhalt ein, sondern die anfangs geringe negativ inotrope Wirkung nimmt im Verlauf der Einwirkungszeit ständig zu und erreicht erst längere Zeit nach der Zugabe des Acetylcholins den stärksten Grad der Wirkung. In der Abb. 4 nimmt

im Moment der Zugabe von 0,01 γ Acetylcholin zu dem aus 1 ccm Ringerlösung bestehenden Kanüleninhalt die Kontraktilität der Kammer um 77 % ab, erhöht sich jedoch rasch wieder und beträgt 12 Minuten später bereits wieder 62 % des Ausgangswertes. Dagegen ist in Gegenwart von 3,2 mg Serumalbumin die negativ inotrope Wirkung der gleichen Acetylcholinmenge im Moment der Zugabe bedeutend geringer. Doch nimmt sie weiter zu, so daß nach 12 Minuten die Hubhöhe nur noch 37 % des Ausgangswertes beträgt. Es wurde in diesem Versuch auch der Einfluß von Serum — und zwar wurde Serum aus Schweineblut benutzt — auf die Wirkungsintensität und Wirkungsgeschwindigkeit von Acetylcholin untersucht, und mit der Wirkung des reinen Serumeiweißkörpers verglichen.

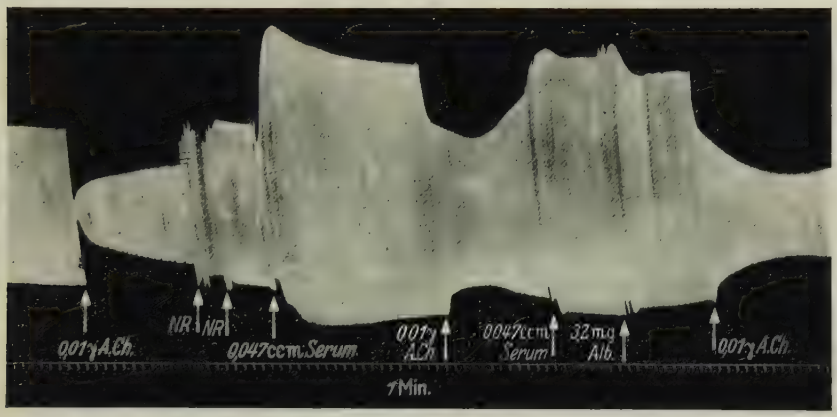


Abb. 4.

Zu diesem Zweck wurden der aus 1 ccm Ringerlösung bestehenden Nährflüssigkeit 0,047 ccm Serum zugesetzt, eine Menge, in der 3,2 mg Eiweiß enthalten waren. Wie aus der Abbildung zu ersehen ist, unterscheiden sich 0,047 ccm Serum von 3,2 mg Eiweißgehalt und 3,2 mg reines Serumalbumin hinsichtlich ihres Einflusses auf die Wirkungsintensität, d. h. auf die im unmittelbaren Anschluß auf die Zugabe hervorgerufene Kontraktilitätsabnahme der Kammer, fast nicht. Auch nach Zusatz von Serum zur Ringerlösung ist, wie aus der Abbildung zu ersehen ist, die Wirkung des Acetylcholins eine protahierte. Doch während nach Zusatz von reinem Serumalbumin die Wirkung innerhalb 12 Minuten dauernd zunimmt, ist in Gegenwart von Serum trotz gleichen Eiweißgehalts in der Nährflüssigkeit bereits nach 6 Minuten das Wirkungsmaximum erreicht — die Hubhöhe beträgt zu diesem Zeitpunkt 59 % des Ausgangswertes — und hat weitere 6 Minuten später bereits wieder 86 % der normalen Hubhöhe erreicht.

Es kann an Hand dieser Abbildung noch eine weitere Beobachtung besprochen werden, denn wie aus der Abbildung zu ersehen ist, wurde die

Kontraktilität der Kammer durch die Zugabe von 0,047 ccm Serum zur Ringerlösung ganz bedeutend gesteigert. Doch läßt sich durch Zugabe reinen Serumalbumins zur Ringerlösung die Kontraktilität der Kammer in prinzipiell der gleichen Weise steigern. Daß Serum und reines Serumeiweiß sich geradezu gegeneinander auswechseln lassen, ist aus Abb. 4 zu ersehen, wo die 0,047 ccm Serum mit einem Eiweißgehalt von 3,2 mg enthaltende Ringerlösung gegen eine 3,2 mg reines Serumalbumin enthaltende Ringerlösung ausgetauscht wurde, ohne daß eine wesentliche Änderung der Kontraktilität der Kammer eingetreten wäre. Es sind also für die bei Zusatz von Serum zu beobachtende Zunahme der Kontraktilität der Kammer des Froschherzens die im Serum enthaltenen Eiweißkörper verantwortlich zu machen, da mit entsprechenden Mengen reinen Eiweißes die gleiche Wirkung zu erzielen ist. Doch während die durch Zusatz von Serum — in geeigneten Konzentrationen — erzielte Zunahme der Kontraktilität über viele Stunden anzuhalten pflegt, beginnt die Hubhöhe der Kammer in Gegenwart reinen Eiweißes in der Nährflüssigkeit nach Erreichung eines Maximums meist schon innerhalb der ersten Stunde nach Zugabe des Serumalbumins wieder — wenn auch in geringem Maße — abzunehmen. Daß dieses unterschiedliche Verhalten zwischen genuinem Serum und dem reinen Serumeiweiß auf der Anwesenheit von dem das Acetylcholin zerstörenden Esteraseferments beruht, sei hier nur angedeutet.

Da nicht die Menge eines Adsorbens, sondern seine Oberflächenentwicklung die Größe seiner Adsorptionsfähigkeit bestimmt, erhebt sich die Frage, ob durch die Einwirkung von Stoffen, die die Oberflächenentwicklung von Eiweißlösungen steigern können, eine verstärkte Adsorption von Acetylcholin an gleiche Eiweißmengen erzielt werden kann. Nach den Untersuchungen von Williams und Watson[5] und Burck und Greenberg[6] ist das Molekulargewicht von verschiedenen Eiweißkörpern (Ovoalbumin, Hämoglobin, Casein, Edestin) in Harnstofflösungen stets kleiner als in wässerigen Lösungen. Die Molekulargewichtsbestimmungen wurden entweder durch osmotische Druckbestimmungen der Eiweißlösungen oder nach der Svedbergschen Methode mit der Ultrazentrifuge ausgeführt. Durch eigene Untersuchungen[7,8] konnte gezeigt werden, daß Harnstoff auf Eiweiß quellungssteigernd und löslichkeitserhöhend wirkt. Zur Erklärung all dieser Beobachtungen kann die Auffassung von Wo. Pauli[9] herangezogen werden, daß beim Eintritt des stark hydratisierten Harnstoffmoleküls in die Eiweißmicelle die Molkohäsion gelockert wird und damit eine stärkere Zerteilung der Substanz im Lösungsmittel auftritt. Die Annahme also, daß in Gegenwart von Harnstoff die Oberflächenentwicklung einer bestimmten Eiweißmenge und damit die Größe

[5] Nature (Brit.) **139**, 506 (1937). — [6] J. biol. Chem. (Am.) **87**, 197 (1930). — [7] Biochem. Z. **291**, 88 (1937). — [8] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 212 (1938). — [9] Kolloid-Z. **67**, 288 (1934).

seiner Adsorptionsfähigkeit zunimmt, kann durch den in Abb. 5 wiedergegebenen Versuch belegt werden. Zu Beginn des Versuchs wurden dem aus 1 ccm Ringerlösung bestehenden Kanüleninhalt im Abstand von 10 Minuten zweimal je 0,02 γ Acetylcholin zugesetzt. Die Hubhöhe sinkt in unmittelbarem Anschluß an die erste Zugabe um 75 % ab, erholt sich jedoch sehr rasch wieder und hat bereits 10 Minuten später wieder 73 % des Ausgangswertes erreicht. Im Anschluß an die zweite Zugabe von 0,02 γ Acetylcholin ist der Abfall der Hubhöhe noch steiler, und die sich anschließende Erholung noch rascher vor sich gehend. Es sind nach 10 Minuten bereits wieder 71 % des Ausgangswertes der Hubhöhe erreicht. In Gegenwart

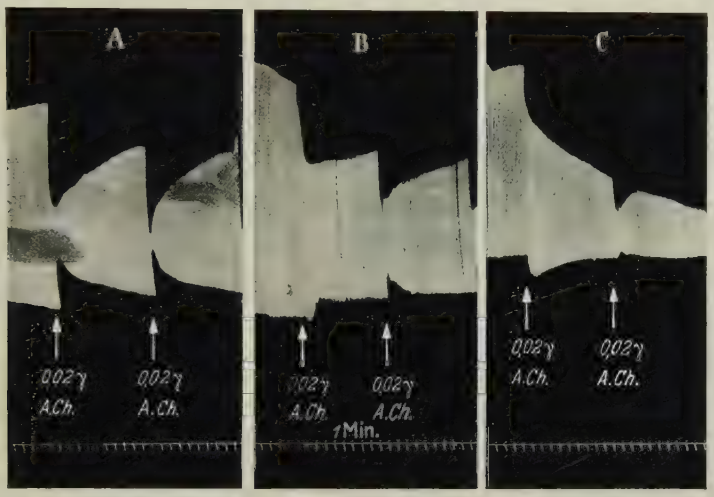


Abb. 5. 1 ccm Ringerlösung. — B: 3,0 mg Serumalbumin in 1 ccm Ringerlösung. C: 3,0 mg Serumalbumin + 4,0 mg Harnstoff in 1 ccm Ringerlösung.

von 3 mg Serumalbumin in der Nährflüssigkeit ist der Ablauf der Acetylcholinwirkung bereits stark verändert. Der sich an die Zugabe des Acetylcholins anschließende Abfall der Hubhöhe ist geringer, und während sich in reiner Ringerlösung die Kontraktilität der Kammer rasch wiederholt, ist in Gegenwart des Serumalbumins in der Nährflüssigkeit eine Zunahme der Kammerkontraktilität nur in geringem Maße zu beobachten. Im weiteren Verlauf des Versuchs wurden dem aus 1 ccm Ringerlösung bestehenden Kanüleninhalt 3 mg Serumalbumin zugesetzt, das im Gegensatz zu den vorausgehenden Versuchen nicht in reiner Ringerlösung, sondern in einer 1 %igen Harnstoff-Ringerlösung gelöst war. Es bestand somit die Nährflüssigkeit nunmehr aus 1 ccm Ringerlösung, in der 3 mg Serumalbumin + 4 mg Harnstoff gelöst enthalten waren. Zu dieser Nährflüssigkeit wurden abermals im Abstand von 10 Minuten zweimal je 0,02 γ Acetylcholin zugesetzt. Die Abnahme der Hubhöhe der Kammer beträgt im unmittelbaren Anschluß an die erste Zugabe des Acetylcholins nur 10 %,

während im vorausgehenden Versuch, also in Gegenwart von 3 mg Serumalbumin ohne Harnstoffzusatz, die Abnahme der Hubhöhe nach Zugabe der gleichen Menge Acetylcholin 60 % betrug. Doch es sinkt im Verlauf von weiteren 10 Minuten die Hubhöhe noch um weitere 31 % ab. 10 Minuten nach Zugabe der zweiten 0,02 γ Acetylcholin beträgt die Hubhöhe nur noch 23 % des Ausgangswertes. Vergleicht man die prozentuale Abnahme der Hubhöhen im Anschluß an die erste Zugabe von 0,02 γ Acetylcholin einmal zur reinen Ringerlösung, dann zur eiweißhaltigen Ringerlösung und schließlich zu der eiweiß-harnstoffhaltigen Ringerlösung, so betragen sie 75 % bzw. 40 % bzw. nur 10 %. Vergleicht man dagegen den 20 Minuten nach der ersten Zugabe von Acetylcholin noch vorhandenen Einfluß auf die Kontraktilität der Kammer, so zeigt sich, daß die Hubhöhen in reiner Ringerlösung nur noch um 30 %, in eiweißhaltiger Ringerlösung um 43 % und in eiweiß-harnstoffhaltiger Ringerlösung noch um 77 % geringer sind, als es dem Ausgangswert entspricht. Man kann also auf Grund dieser Versuche mit Recht annehmen, daß in Gegenwart von Harnstoff das gelöste Eiweiß eine Auflockerung seiner Micellenstruktur erfahren hat, mit der eine Zunahme der spezifischen Oberflächen des Kolloids einherging, die zu einer verstärkten Adsorption von Acetylcholin an das Eiweiß geführt hat, die als die Ursache der Veränderungen, die das Acetylcholin in seinem Wirkungsablauf erfahren hat, anzusehen ist.

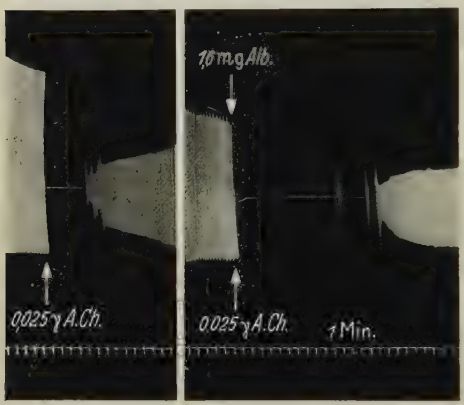


Abb. 6.

Es sei schließlich noch ein Versuch angeführt, durch den gezeigt werden kann, daß durch Zugabe von Eiweiß zur Nährflüssigkeit nach Eintritt der maximalen Acetylcholinwirkung die Dauer der maximalen Wirkung bedeutend verlängert werden kann. Wie aus dem Anfangsteil der Abb. 6 hervorgeht, tritt nach Zugabe von 0,025 γ Acetylcholin zu der aus Ringerlösung bestehenden Nährflüssigkeit ein Kammerstillstand von $4^1/_2$ Minuten Dauer ein. Nach Entfernen der acetylcholinhaltigen Ringerlösung aus der Kanüle und Ersatz durch reine Ringerlösung werden dieser abermals 0,025 γ Acetylcholin zugesetzt, aber diesmal 4 Sekunden nach der Zugabe des Acetylcholins, d. h. in dem Augenblick, in dem der Kammerstillstand eingetreten war, werden noch nachträglich dem Kanüleninhalt 1,6 mg Serumalbumin zugesetzt. Der Stillstand der Kammer dauert 15 Minuten. Dieser Kammerstillstand besteht also noch zu einem Zeitpunkt, zu dem im Vorversuch die Kammer bereits wieder 57 % der Ausgangshubhöhe erreicht hatte.

Besprechung.

Wenn wir die Einzelbeobachtungen, die wir an Hand der Abbildungen soeben beschrieben haben, zusammenfassen, so ergibt sich im wesentlichen folgendes: Wird Acetylcholin serum- bzw. serumalbuminhaltiger Ringerlösung zugesetzt, so ist der Wirkungscharakter des Acetylcholins ein anderer als dann, wenn man die gleiche Menge Acetylcholin reiner Ringerlösung zusetzt. Während an dem mit Ringerlösung gespeisten Froschherz im unmittelbaren Anschluß an die Zugabe von Acetylcholin, d. h. innerhalb weniger Sekunden bis zu einer Minute, das Wirkungsmaximum eintritt, und sofort nach Erreichung der maximalen negativ inotropen Wirkung die Intensität der Acetylcholinwirkung wieder abzunehmen beginnt, ist die negativ inotrope Wirkung gleicher Mengen Acetylcholin in Gegenwart von Eiweiß in der Nährflüssigkeit im Augenblick der Zugabe des Acetylcholins nur gering. Doch sie nimmt im weiteren Verlauf der Einwirkungszeit stetig zu und erreicht ein Wirkungsmaximum nach einer Zeit, die das mehrere Hundertfache von der beträgt, die nach Zugabe gleicher Acetylcholinmengen zu reiner Ringerlösung beobachtet wird (s. Abb. 4). Da die Änderung des Wirkungscharakters des Acetylcholins durch die Zugabe von Serum bzw. Serumalbumin zur Nährflüssigkeit auf einer Bindung des Acetylcholins an das Kolloid beruht, ist der Grad der Änderung abhängig einerseits von der jeweiligen Konzentration bzw. von der spezifischen Oberfläche des in der Nährflüssigkeit enthaltenen gelösten Eiweißes, andererseits auch von der Menge des der Nährflüssigkeit zugesetzten Acetylcholins. So haben wir z. B. in Abb. 1 gesehen, daß in Gegenwart von 1,5 mg Serumalbumin in der Nährflüssigkeit nur die ersten 0,05 γ Acetylcholin eine Änderung ihres Wirkungscharakters erfahren, während die Wirkung einer 10 Minuten später erfolgten nochmaligen Zugabe von 0,05 γ Acetylcholin gegenüber der in reiner Ringerlösung nicht verändert ist. Dagegen ist in Gegenwart von 3 mg Serumalbumin in der Nährflüssigkeit auch der Wirkungscharakter der zweiten Zugabe von 0,05 γ Acetylcholin mit beeinflußt. In Abb. 3 konnte gezeigt werden, daß man die Acetylcholinmengen verdoppeln kann, ohne daß damit eine Änderung der Wirkungsintensität bzw. Wirkungsgeschwindigkeit einhergeht, wenn man die Konzentration des Adsorbens gleichzeitig entsprechend erhöht. Es hat also eine bestimmte Menge des kolloidal gelösten Eiweißes die Fähigkeit, eine bestimmte Menge Acetylcholin zu binden und es damit in seinem Wirkungscharakter zu verändern. Solange die Adsorptionsfähigkeit des in der Nährflüssigkeit enthaltenen Eiweißes noch nicht erschöpft ist, wird die Zugabe von Acetylcholin eine Änderung ihres Wirkungscharakters erfahren (s. Abb. 2). Sind dagegen die gesamten zur Adsorption zur Verfügung stehenden Oberflächen des Kolloids mit Acetylcholinmolekülen abgesättigt, so bleibt eine weitere Zugabe von Acetylcholin in ihrem Wirkungscharakter unbeeinflußt. Wie aus Abb. 4 zu ersehen war, sind die Änderungen im Wirkungscharakter des Acetylcholins durch Zugabe von

reinem Serumalbumin zur Nährflüssigkeit in prinzipiell gleicher Weise zu beobachten, wenn man statt reinem Serumalbumin genuines Serum der Ringerlösung zusetzt. Und zwar ist für den Grad der Wirkung der Eiweißgehalt des Serums maßgebend. Es ist damit gezeigt, daß die Serumeiweißkörper verantwortlich zu machen sind für die Änderungen im Wirkungscharakter des Acetylcholins in Gegenwart von Serum in der Nährflüssigkeit. Doch haben sich zwischen der Wirkung von reinem Serumalbumin und der von genuinem Serum auf den Wirkungscharakter des Acetylcholins gewisse Unterschiede ergeben. Wie aus der Abb. 4 zu ersehen war, war nach Zugabe von 0,01 γ Acetylcholin in Gegenwart von Serum in der Nährflüssigkeit bereits nach 6 Minuten das Wirkungsmaximum erreicht worden, und nach weiteren 6 Minuten hatte sich die Kontraktilität der Kammer bereits wieder soweit erholt, daß sie nur noch um 14% geringer war als vor Zugabe des Acetylcholins. In Gegenwart von reinem Serumalbumin in der Nährflüssigkeit dagegen war zum gleichen Zeitpunkt die Kontraktilität der Kammer noch um 63% geringer als vor der Zugabe der gleichen Menge Acetylcholin. Daß diese Unterschiede auf der Anwesenheit von Esterase, einem das Acetylcholin zerstörenden Ferment, im genuinen Serum beruht, ist äußerst wahrscheinlich. Es wurde in Abb. 6 weiterhin gezeigt, daß die durch Zugabe von Acetylcholin zu reiner Ringerlösung hervorgerufene negativ inotrope Wirkung durch nachträglichen Zusatz von Serumalbumin in ihrer Dauer bedeutend verstärkt wird. Und schließlich konnte an Hand des in Abb. 5 wiedergegebenen Versuchs gezeigt werden, daß für den Grad der Beeinflussung des Wirkungscharakters des Acetylcholins durch Eiweiß dessen jeweilige Adsorptionsfähigkeit maßgebend ist. Denn es hat sich gezeigt, daß eine gleiche Eiweißmenge, deren spezifische Oberfläche unter der Einwirkung von Harnstoff vergrößert wurde, auch eine größere Menge Acetylcholin zu binden und damit Wirkungsintensität und Wirkungsgeschwindigkeit in stärkerem Maße zu beeinflussen vermag.

Es wurde bereits einleitend darauf hingewiesen, daß Acetylcholin als Potentialstoff im Sinne der Straubschen Theorie der Potentialwirkungen aufzufassen ist, und es soll im folgenden gezeigt werden, daß an Hand dieser Theorie die mitgeteilten Beobachtungen einheitlich zu erklären sind. Die Wirkungsintensität eines Potentialstoffs ist, wie ebenfalls schon angedeutet wurde, durch die Höhe des Konzentrationspotentials in der Richtung zum Zellinnern hin bestimmt. Die negativ inotrope Wirkung auf die Kammer des Froschherzens kommt also dadurch zustande, daß sich im unmittelbaren Anschluß an die Zugabe von Acetylcholin zum Kanüleninhalt in der Richtung zum Zellinnern hin ein der zugesetzten Acetylcholinmenge entsprechend hohes Konzentrationspotential ausbildet. Durch das Eindringen von Acetylcholin in das Zellinnere, also durch den allmählichen Ausgleich des Konzentrationsunterschiedes zwischen der Umgebung der Zelle und dem Zellinnern, tritt eine Abnahme des Acetyl-

cholinkonzentrationspotentials und damit der negativ inotropen Wirkung des Acetylcholins ein, die sich in einer Wiederzunahme der Hubhöhen der Kammer äußert. Nun ist in Gegenwart von Eiweißkörpern in der Nährflüssigkeit die nach Zugabe einer gleich großen Acetylcholinmenge auftretende negativ inotrope Wirkung deshalb abgeschwächt, weil ein gewisser Prozentsatz des zugeführten Acetylcholins an die Oberflächen des Kolloids adsorbiert wird, und damit die Konzentration des in der Lösung enthaltenen freien Acetylcholins herabgesetzt wird. Es soll z. B. die Acetylcholinkonzentration in 1 ccm reiner Ringerlösung C betragen, die nach Zusatz von Eiweiß an das Kolloid adsorbierte Acetylcholinmenge soll X sein, so beträgt nach Eintritt des Adsorptionsgleichgewichts die Acetylcholinkonzentration in der Lösung $C-X$. Somit ist auch das am Wirkungsort, d. h. das an den Zellgrenzflächen wirksam werdende Acetylcholinkonzentrationspotential um $C-X$ kleiner als dann, wenn die gleiche Acetylcholinmenge einer eiweißfreien Nährflüssigkeit zugesetzt wird. Damit erklärt sich die geringere negativ inotrope Wirkung gleicher Acetylcholinmengen in Gegenwart von Eiweiß in der Nährflüssigkeit.

Der späte Eintritt des Wirkungsmaximums und die lange Dauer der Acetylcholinwirkung nach Zusatz von Eiweiß zur Nährflüssigkeit erklärt sich folgendermaßen: Setzt man Acetylcholin reiner Ringerlösung zu, so bildet sich im unmittelbaren Anschluß an die Zugabe an den Zellgrenzflächen ein sehr hohes Acetylcholinkonzentrationspotential aus, das infolge der Steilheit des Diffusionspotentials sich in relativ kurzer Zeit in der Richtung zum Zellinnern hin versucht auszugleichen. Dies beweist die Tatsache, daß Acetylcholin im unmittelbaren Anschluß an die Zugabe zur Ringerlösung eine sehr starke negativ inotrope Wirkung ausübt, die jedoch nur von sehr kurzer Dauer sein kann deshalb, weil infolge des hohen Diffusionspotentials sich der Konzentrationsunterschied zwischen der Umgebung der Zelle und dem Zellinnern sehr rasch ausgleicht. In Gegenwart eines kolloidalen Adsorbens in der Nährflüssigkeit gelangt im Augenblick der Zugabe von Acetylcholin zur Nährflüssigkeit nur ein relativ geringer Anteil des zugeführten Acetylcholins an die Zellgrenzflächen, während der übrige an die kolloidalen Oberflächen adsorbierte Anteil im langsamen Dauerstorm aus der Nährflüssigkeit an den Wirkungsort gelangt, und somit über eine lange Zeit hin die Acetylcholinkonzentration am Wirkungsort auf nahezu gleicher Höhe hält. Denn ein Absinken der Acetylcholinkonzentration in der Umgebung der Zelle kann dadurch über längere Zeit hintangehalten werden, daß sich in der Nährflüssigkeit dauernd zwischen der Acetylcholinkonzentration in der Lösung und der an den kolloidalen Oberflächen ein neues Gleichgewicht einstellt. Ein rasches Absinken des Acetylcholinkonzentrationspotentials aber wird dadurch vermieden, daß die in der Zeiteinheit in die Zelle eindringende Acetylcholinmenge infolge des langsamen, sozusagen optimalen Zustroms aus dem Kanüleninhalt so gering ist, daß ein rascher Ausgleich der Konzentrations-

unterschiede zwischen der Umgebung der Zelle und dem Zellinnern überhaupt nicht möglich ist, bzw. daß die in der Zeiteinheit in die Zelle eindringende Acetylcholinmenge so gering ist, daß sie von der im Zellinnern anwesenden Esterase weitgehend zerstört werden kann und ein rasches Ansteigen der Acetylcholinkonzentration im Zellinnern vermieden wird.

Doch mit der Annahme, daß durch den langsamen dauernden Zustrom von Acetylcholin aus der Nährflüssigkeit eine über lange Zeit bestehende konstante Acetylcholinkonzentration in der Umgebung der Zelle unterhalten werden kann, ist die Tatsache noch nicht erklärt, daß nach Zugabe von Acetylcholin zu eiweißhaltiger Nährflüssigkeit mit der Dauer der Einwirkungszeit die Wirkungsintensität dauernd zunimmt. Nach den Untersuchungen von Dale[10], Löwi und Navratil[11] kommt im tierischen Gewebe ein das Acetylcholin verseifendes Ferment vor. Durch Verseifung verliert Acetylcholin seine physiologische Wirksamkeit. Im Augenblick der Zugabe unphysiologisch großer Acetylcholinmengen, wie sie in unseren Versuchen stets angewandt wurden, reicht die normale Verseifungskapazität der Zelle bei weitem nicht aus, die großen Mengen einströmenden Acetylcholins rasch zu verseifen. Es wird deshalb anfänglich stets das in die Zelle eindringende Acetylcholin die im Zellinnern vorhandene Acetylcholinkonzentration erhöhen müssen, wodurch das zwischen der Umgebung der Zelle und dem Zellinnern bestehende Konzentrationsgefälle entsprechend erniedrigt wird. Doch scheint durch das Einströmen unphysiologisch hoher Acetylcholinmengen in die Zelle auf die Zelle ein Reiz ausgeübt zu werden, auf den sie mit einer Aktivierung von Esteraseferment reagiert. Es ist anzunehmen, daß dieser Aktivierungsvorgang nicht plötzlich stattfinden kann, sondern daß mit der Dauer des Reizes, d. h. mit der Dauer des Einströmens von Acetylcholin in die Zelle, deren Verseifungskapazität stetig zunimmt. Wie bereits erwähnt, kann in Gegenwart eines Adsorbens in der Nährflüssigkeit durch den über lange Zeit bestehenden Zustrom von Acetylcholin aus der Nährflüssigkeit in der Umgebung der Zelle eine nahezu konstante Acetylcholinkonzentration unterhalten werden. Doch während anfänglich die Verseifungskapazität der Zelle nicht ausreicht, um das gesamte in der Zeiteinheit einströmende Acetylcholin zu zerstören, kann, da mit der Dauer der Einwirkungszeit von Acetylcholin die von der Zelle aktivierte Esterasemenge mehr und mehr zunimmt, bei langdauerndem langsamen Einströmen von Acetylcholin in der Zeiteinheit mehr und mehr Acetylcholin in der Zelle zerstört werden, d. h. die Acetylcholinkonzentration im Innern nähert sich mehr und mehr dem Nullwert. Sinkt aber bei gleichbleibender Acetylcholinkonzentration in der Umgebung der Zelle im Zellinnern die Acetylcholinkonzentration dauernd ab, so muß das Acetylcholinkonzentrationspotential in der Richtung zum Zellinnern hin sich dauernd vergrößern. Da die Höhe des Konzentrations-

[10] Brit. med. J. 1934. — [11] Pflügers Arch. **214**, 678 (1926).

potentials die Intensität der Wirkung bestimmt, so folgert daraus eine stetig zunehmende negativ inotrope Wirkung auf die Kontraktilität der Kammer, wie wir sie in Abb. 1, 2, 3 und 4 beobachten konnten.

In Abb. 6 konnten wir zeigen, daß die Dauer eines durch Zugabe von Acetylcholin zu Ringerlösung bewirkten Kammerstillstandes durch nachträglichen Zusatz von Serumalbumin stark verlängert wurde. Ohne den nachträglichen Zusatz von Eiweiß wird in relativ kurzer Zeit das zwischen der Umgebung der Zelle und dem Zellinnern bestehende Acetylcholinkonzentrationsgefälle ausgeglichen, so daß nach etwa $4^1/_2$ Minuten das zur Aufrechterhaltung eines Kammerstillstands nötige Konzentrationspotential unterschritten worden war. Wird dagegen nach Eintritt des Kammerstillstands ein Teil des in der Nährflüssigkeit vorhandenen Acetylcholins an das dem Kanüleninhalt zugesetzte Kolloid adsorbiert und somit vor einem allzu raschen Einströmen in die Zelle zurückgehalten, so kann eventuell ein zur Aufrechterhaltung eines Kammerstillstands eben noch ausreichendes Konzentrationspotential infolge des langsamen Zustromes von Acetylcholin zum Wirkungsort über eine entsprechend längere Zeit unterhalten werden. Dazu kommt noch, daß auch die Verseifungskapazität der Zelle mit der Dauer der Einwirkungszeit von Acetylcholin mehr und mehr zunimmt, so daß selbst bei einem allmählichen Rückgang der Acetylcholinkonzentration in der Nährflüssigkeit, und somit in der Umgebung der Zelle, das Acetylcholinkonzentrationsgefälle auf einer bestimmten — zur Aufrechterhaltung des Kammerstillstands eben ausreichenden — Höhe gehalten werden kann.

Der Einfluß, den die Zugabe von genuinem Serum zur Nährflüssigkeit auf den Wirkungsmodus am Froschherzen ausübt, unterscheidet sich von dem durch Zusatz von reinem Serumeiweißkörper verursachten, soweit er durch die im genuinen Serum enthaltenen Eiweißkörper bedingt ist, nicht. Die Unterschiede, die sich zwischen dem Einfluß des reinen Serumeiweißkörpers und dem von Serum ergeben haben, sind, wie bereits erwähnt wurde, mit größter Wahrscheinlichkeit auf die Anwesenheit von Esterase im Serum zurückzuführen. Denn es wird nach Zugabe von Acetylcholin zu serumhaltiger, d. h. nicht nur zu eiweiß- sondern auch esterasehaltiger Nährflüssigkeit, ein bestimmter Teil des Acetylcholins bereits in der Nährflüssigkeit zerstört. Aus diesem Grunde ist die Wirkungsgeschwindigkeit und Wirkungsintensität gleicher Mengen Acetylcholin in serumhaltiger Ringerlösung kürzer als in Gegenwart einer dem Eiweißgehalt des zugesetzten Serums entsprechenden Menge reinen Serumeiweißes. Es setzt in Abb. 6 von der sechsten Minute nach Zugabe von 0,01 γ Acetylcholin zur serumhaltigen Ringerlösung eine Wiederzunahme der Hubhöhen ein, weil zu diesem Zeitpunkt infolge der Zerstörung von Acetylcholin in der Nährflüssigkeit durch das esterasehaltige Serum die Acetylkonzentration in der Umgebung der Zelle rascher absinkt als innerhalb der Zelle.

Schließlich soll noch versucht werden, die durch Zusatz von reinem Serumeiweiß bzw. durch Zusatz von genuinem Serum zur Ringerlösung hervorgerufene starke Zunahme der Kontraktilität der Kammer des isolierten Froschherzens zu erklären. Es ist anzunehmen, daß die nervösen und dynamischen Vorgänge auch am isolierten Herzen noch der Steuerung durch eine periphere Restfunktion der vegetativen Nerven unterliegen, indem z. B. am isolierten Herzen einerseits durch Dauerbildung von Acetylcholin an den Nervenenden des Herzvagus, andererseits durch Dauerzerstörung von Acetylcholin in der Zelle ein bestimmtwertiges Acetylcholinkonzentrationspotential unterhalten wird, dessen Höhe für die Stärke der negativ bathmo-, ino- und chonotropen Vaguswirkung auf das Herz bestimmend ist. Bekanntlich nimmt mit der Häufigkeit des Auswaschens eines isolierten Froschherzens mit Ringerlösung die Hubhöhe mehr und mehr ab. Die Kontraktilität der Kammer unterliegt scheinbar mit der Häufigkeit des Auswaschens mehr und mehr dem negativ bathmo- und inotropen Einfluß des Vagus bzw. seines Überträgerstoffes des Acetylcholins. Mit der Häufigkeit des Auswaschens entfernt man nicht nur die letzten Reste von Blutserum aus dem Kammercavum und der Interzellularflüssigkeit, sondern gleichzeitig auch das das Acetylcholin verseifende Esteraseferment, während die Muskelzelle in ihrem Innern einen relativ normalen Esterasegehalt noch weiterhin besitzt. Es muß aus diesem Grunde bei gleichbleibender Dauerbildung von Acetylcholin und Abgabe an die aus reiner Ringerlösung bestehende Nährflüssigkeit des Herzens, da nunmehr weder eine Adsorption an Kolloide noch eine Zerstörung durch Esterase stattfindet, die in der Nährflüssigkeit vorhandene Acetylcholinkonzentration die überhaupt größtmöglichste sein. Da die Verseifungskapazität der Zelle eine wesentliche Einbuße nicht erlitten hat, so ist nach Ersatz der normalen Blut- und Gewebsflüssigkeit durch normale Ringerlösung auch das in der Richtung zum Zellinnern hin bestehende Acetylcholinkonzentrationspotential, und somit der negativ inotrope Einfluß des Acetylcholins auf die Kontraktilität der Kammer der größtmöglichste. Aus dieser Annahme erklärt sich, daß nach Zusatz von reinem Eiweiß zu der aus Ringerlösung bestehenden Nährflüssigkeit durch Adsorption des physiologisch gebildeten Acetylcholins an die kolloidalen Oberflächen eine Abnahme der Acetylcholinkonzentration in der Nährflüssigkeit, und somit auch eine Verminderung des Acetylcholinkonzentrationspotentials in der Richtung zum Zellinnern eintreten muß. Sind jedoch die zur Adsorption zur Verfügung stehenden kolloidalen Oberflächen mit Acetylcholinmolekülen abgesättigt, so nimmt die Acetylcholinkonzentration in der Nährlösung wiederum zu, und es setzt infolge der Zunahme des Acetylcholinkonzentrationspotentials wieder eine Abnahme der Kontraktilität der Kammer ein. Diese bleibt, wie wir mitgeteilt haben, nach Zusatz von genuinem Serum zumeist aus, und zwar deshalb, weil eine Absättigung der adsorbierenden Oberflächen durch die dauernde Zerstörung

von Acetylcholin an eben diesen Oberflächen durch das vorhandene Esterase-ferment dauernd verhindert werden kann.

Zusammenfassung.

1. Die Änderungen des Wirkungsmechanismus des Acetylcholins am isolierten Froschherz nach Zusatz von Eiweißkörpern bzw. genuinem Serum zur aus Ringerlösung bestehenden Nährflüssigkeit werden als die Folge der Adsorption des Acetylcholins an die gelösten Eiweißkörper betrachtet.

2. Die Zunahme der Kontraktilität der Kammer des isolierten Froschherzens nach Zusatz von reinen Eiweißkörpern bzw. genuinem Serum zur aus Ringerlösung bestehenden Nährflüssigkeit wird ebenfalls als Adsorptionsvorgang von Acetylcholin an die gelösten Eiweißkörper angesehen.

3. Die Beobachtungen werden an Hand der Straubschen Theorie der Potentialwirkungen erklärt.

Aus dem pharmakologischen Laboratorium der Asta A. G., Brackwede i. W.

Ein einfaches Verfahren der zahlenmäßigen Bewertung sedativer Effekte.

Von

R. v. Werz und **R. Verleger.**

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 13. Februar 1939.)

Bis vor kurzem waren die Verfahren zur Erfassung sedativer Wirkungen im Tierexperiment noch recht wenig entwickelt und bestenfalls für qualitative Aussagen geeignet. So wurden z. B. die Vertikalbewegungen des Tierkäfigs oder — noch in jüngster Zeit — die Bewegungen selbst nur eines Körperteils des Versuchstieres auf eine Schreibfahne übertragen. Die so gewonnene Rußkurve gibt dann ein gewisses Bild vom motorischen Verhalten des Tieres, das sich als Grundlage für zahlenmäßige Angabe indessen nicht eignet, weil eine Kurve mit der anderen nicht quantitativ verglichen werden kann.

Der erste Versuch zur Messung sedativer Wirkungen wurde von Kochmann[1] gemacht, der die Vertikalbewegungen des „Zitterkäfigs" auf eine Art Arbeitssammler übertrug.

Die zweite quantitative Methode wurde kürzlich von Forst[3] angegeben. Hier bewirken Ortsveränderungen des Tieres (Maus) Bewegungen der labil unterstützten Unterlage, die durch elektrische Kontaktauslösung (mittels einer rollenden Kugel) auf einen Impulszähler und letzten Endes wiederum auf eine Rußkurve übertragen werden.

Diese Methoden bedienen sich beide mechanischer Übertragung der Bewegungen und sind deshalb grundsätzlich mit dem Nachteil behaftet, daß gewisse Bewegungsrichtungen bevorzugt registriert werden (vertikale bzw. tangentiale), während zu dieser Richtung senkrechte Bewegungen entsprechend nicht zur Aufzeichnung gelangen. Von dem Gesichtspunkt aus gesehen, daß wir für den Vergleich von Wirkungen letzten Endes eine Zahl brauchen, erscheint die Wiedereinführung der Rußkurve bei Forst als nicht wesentlich bzw. nur als „Legende" zum „Zahlenprotokoll". Wie alle Methoden mechanischer Bewegungsregistrierung sind schließlich beide Verfahren ausschließlich für die Beobachtung von Einzeltieren geeignet.

Nun hat Forst noch vor Bekanntgabe seiner quantitativen Methode (wegen der rollenden Kugel, welche die Kontaktschlüsse bewirkt, mag sie als Roulette-Methode bezeichnet werden) über ein einfaches Verfahren „zur Erkennung" sedativer Wirkungen berichtet[2], das uns beachtenswerte Möglichkeiten zu enthalten schien. Er läßt die Maus unter einer Glasglocke auf einer berußten Unterlage frei laufen und wechselt die Rußfläche in halbstündigen Intervallen. Je nach dem Bewegungstrieb der Tiere wird die Unterlage verschieden stark abgelaufen, d. h. mehr oder weniger von Ruß befreit. Verglichen mit der „Normalkurve" bedeutet dann ein Mehr an Weiß „Erregung" ein Weniger „Beruhigung". Auch qualitative Unterschiede der Giftwirkung kommen dabei zum Ausdruck, indem sich z. B. die Wirkung einiger Alkaloide in einer „Manegebewegung" entlang dem Glockenrand unter Aussparung der schwarzbleibenden Mitte auswirkt.

Obwohl Forst [2] selbst betont, daß diese ältere Methode (sie sei kurzerhand als Rußmethode bezeichnet) lediglich zum qualitativen Nachweis sedativer Wirkungen geschaffen wurde, sind wir der Ansicht, daß ihr Prinzip vor seiner „Roulette-Methode" mehrere grundsätzliche Vorzüge bietet, und zwar erschienen uns besonders folgende Umstände bestechend: Originalität und Einfachheit, nichtmechanische Registrierung, fehlende Massenträgheit. Dazu kommt der schon von Forst hervorgehobene entscheidende Vorzug, daß die Bewegung der Tiere vollkommen frei und ungehemmt erfolgt. (Gegenbeispiel das Verfahren nach Druckrey[4, 5, 6], bei dem die Maus — deren Bewegungen vom Ohr auf einen Schreibhebel übertragen werden — in einem engen Zylinder eingeschlossen, für jede Bewegung durch Schmerzreiz bestraft wird, so daß die von den betreffenden Autoren als sedative Wirkungen angesprochenen Ergebnisse auch als analgetische Effekte aufgefaßt werden können.)

Es erschien uns deshalb reizvoll, auf diesen aussichtsreichen Grundlagen eine einfache und doch quantitative Methode zu entwickeln, die eventuell erstmalig auch für Gruppenversuche verwendbar sein würde. Dabei hatten wir besonders die Anwendung für Serienversuche größeren Stils im Industrielaboratorium im Auge, wo es in erster Linie auf Einfachheit, Betriebssicherheit und Unabhängigkeit vom Beobachter ankommt.

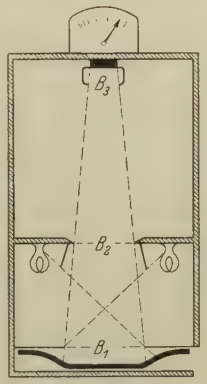


Abb. 1.
Aufriß des Photometers.

Das Prinzip der quantitativen Methode, wie wir sie anwandten, besteht darin, daß wir die abgelaufene Rußfläche mittels eines Belichtungsmessers (Photozelle) im auffallenden Licht nach ihrem „Weißgehalt", der in Flächenprozenten ausgedrückt wird, auswerten. Die erhaltene Zahl kann unmittelbar auf einen „Normalwert" bezogen werden.

Zur Einrichtung der Methode benötigt man an besonderen Hilfsmitteln nichts weiter als:

1. einen handelsüblichen photographischen Belichtungsmesser von passendem Öffnungswinkel,

2. 10—20 große Bratenteller mit einigen passenden Käseglocken,

3. eine konstante Stromquelle für die Beleuchtung der Teller.

Der Apparat zur Messung des Weißwertes kann leicht selbst hergestellt werden. Er besteht aus einer innen mattgeschwärzten, vierkantigen Holzkiste, deren Aufriß in Abb. 1 dargestellt ist. Zu unterst wird durch einen Schlitz der Teller eingeschoben, der sich durch eine entsprechende Führung automatisch zentriert. Den Tellerrand verdeckt die Kreisblende B_1, die den gleichen Durchmesser (20 cm) wie die Käseglocken hat. Zur Beleuchtung dienen vier mattierte Birnen à 60 Watt, die den Teller von den Ecken aus gleichmäßig beleuchten (Kontrolle durch Drehen eines halb weiß, halb schwarzen Tellers). Die Kreisblenden B_1, B_2, B_3 haben progressiv abnehmende Öffnung, so daß das elektrische „Auge" nur die engste Blende B_3 „sieht" und keinerlei reflektiertes Seitenlicht in die Photozelle gelangen kann. (Kontrolle: Bei Entfernung von Teller und Kistenboden muß das Galvanometer Null zeigen, wenn die Beleuchtung eingeschaltet und die Öffnung der Kiste gegen einen leeren, dunklen Raum — „absolut schwarzer Körper" — gerichtet ist).

Als Photozelle bauten wir das „Auge" eines „Elektro-Bewi"-Belichtungsmessers mit normalem Öffnungswinkel ein. Entfernung vom Teller = 43 cm. Als Galvanometer diente das empfindliche Instrument dieses preiswerten Gerätes selbst, das mit robuster Bandaufhängung ausgestattet ist. Die Zuleitung wurde

herausgeführt und das Galvanometer neben einem Voltmeter aufgestellt, das in unserem Falle zur Kontrolle der Netzspannung erforderlich war. Diese ist nötigenfalls durch Transformator oder Widerstand zu regeln.

Die Eichung des Photometers auf Flächenwerte erfolgt, indem man, beginnend mit einem total geschwärzten Teller. (Weißgehalt Null %) zunehmend größere Sektoren desselben entrußt und die zugehörigen Galvanometerausschläge notiert. Da auch der schwärzeste Teller immer noch etwas Licht reflektiert, so kommt es, daß die Eichkurve von einem Galvanometerausschlag größer als Null ausgeht. Bei graphischer Darstellung auf logarithmischer Einteilung erhält man als Eichkurve eine Gerade (gestrichelte Linie, Abb. 2).

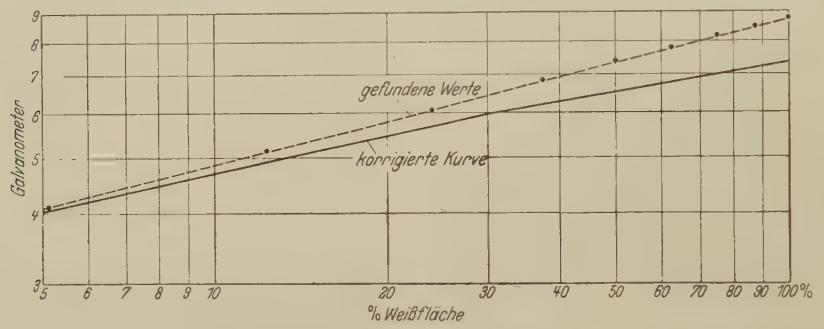


Abb. 2. Eichkurve (Acetylenruß). ● — — ● = gefundene Werte; ——— = korrigierte Kurve.

Korrektur der Eichkurve. Es ist zweifellos ein grundsätzlicher Nachteil des qualitativen Originalverfahrens, daß die Bewegung der Maus, wenn sie ein zweites Mal auf eine bereits weiße Stelle tritt, nicht zum Ausdruck kommt, so daß trotz gleichmäßiger Bewegung der Tiere der Zuwachs an Weißfläche immer kleiner wird. Andererseits bietet die quantitative Ausgestaltung des Verfahrens den Vorteil, daß dieser Fehler korrigiert werden kann. Voraussetzung ist allerdings, daß die Tiere die Fläche gleichmäßig-diffus ablaufen, was für die Wirkung mancher erregender Gifte [2] nicht zutrifft. Wo andererseits, wie in den meisten Fällen, diese Voraussetzung erfüllt ist, kann man die Annahme machen, daß bei Erreichung von 20% Weißwert die Maus mit jedem fünften „Schritt", bei 30% Weißwert mit jedem dritten Schritt auf Weiß tritt bzw. daß bei 50% abgetretener Rußfläche bereits jeder zweite Schritt nicht registriert wird. Die „wahren" Weißwerte liegen also in Wirklichkeit zunehmend höher als die abgelesenen, was man durch Anlegen einer entsprechend korrigierten, „wahren" Eichkurve berücksichtigt (ausgezogene Gerade in Abb. 2).

Für die praktische Verwendung der Methode ist es wichtig, daß die optische Auswertung es ferner gestattet, an Stelle von berußtem Papier Teller zu verwenden, wodurch das Verfahren billiger und handlicher wird. Das Aufbewahren meterlanger Kurven, die sich nicht übersehen lassen, kommt in Fortfall.

Die Vorbehandlung der Teller muß mit Sorgfalt erfolgen, denn es kommt in hohem Maße darauf an, daß die Berußung immer gleichmäßig ist, der Ruß tief schwarz und vor allem seine Haftung so gering ist, daß selbst die leichteste Berührung den Teller völlig bloßlegt. Sind die Teller nicht absolut sauber bzw. nicht absolut trocken, so bildet sich zu unterst ein relativ festhaftender „Graufilm", der die Auswertung vereitelt bzw. falsche Werte liefert. Diese Fehlerquelle ist aber leicht vermeidbar, wenn die Teller, die mit Seife und sauberem Tuch gründlich zu reinigen sind, in heißem Zustand berußt werden, wodurch das adsorptiv gebundene Wasser entfernt wird. Zur Berußung eignet sich, wie wir fanden, ausschließlich

die leuchtende Azetylenflamme, da sie nicht nur viel stärker schwärzt, als die Benzolflamme, sondern auch bei etwas zu starker Deckung nicht wieder eine Aufhellung erzeugt. Bevor der Teller zur Auswertung in den Kasten geschoben wird ist der abgetretene Ruß durch leichtes Abblasen zu entfernen.

Der Arbeitsraum, in dem die Mäuse während der Versuchstage ständig untergebracht sind, ist ausschließlich auf künstliche Beleuchtung einzustellen und gleichmäßig warm zu halten. Die Tiere erhalten trockene Standardkost ad libitum. Am Vorabend des Versuchs wird die Flüssigkeitszufuhr eingestellt.

Prüfung der Methode. Die zahlenmäßige Auswertung der Rußfläche macht es möglich, die Abhängigkeit des Ergebnisses von verschiedenen Versuchsbedingungen zu ermitteln und die beste Anordnung auszuwählen bzw. die Leistungsfähigkeit der Methode zu prüfen.

Zunächst wurde das Verhalten normaler Mäuse bei ständigem Tellerwechsel nach je $7^1/_2$ Minuten ermittelt. Bei diesem Vorgehen nimmt sehr häufig der Bewegungsdrang der Tiere immer mehr ab, und man erhält bei graphischer Darstellung oft einen sehr typischen „sedativen Effekt" (siehe Abb. 3),

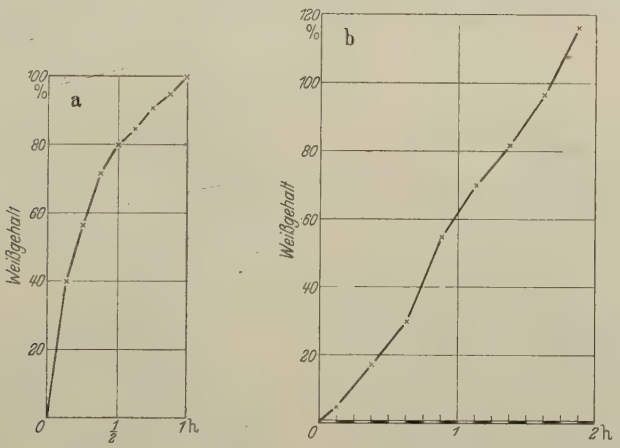


Abb. 3. Einfluß der Abwechslung (Pause) auf die Lebhaftigkeit der Maus.

den auch Forst als mögliche Fehlerquelle bei etwa einem Drittel der Tiere erwähnt. Indessen halten wir es nicht für nötig oder auch nur zweckmäßig, solche Tiere auszuschalten, denn die „Beruhigung" beruht auf der zunehmenden „Erfahrung" der Maus, die bald lernt, daß ein Teller dem anderen gleicht, so daß ihr Interesse an der Durchforschung der Umgebung (welche nun keinen Neuigkeitswert mehr besitzt) bald aufhört. Mit diesen gleich zu Anfang einen „Beruhigungseffekt" zeigenden Tieren würde man also gerade die „intelligentesten" Mäuse ausschalten und dafür nur diejenigen behalten, welche erst im Laufe der Vorversuche oder gar Hauptversuche zu der maßgebenden, dann aber unsere Zwecke störenden Einsicht gelangen.

Wie wir fanden, zeigen andererseits die Mäuse durchweg ein gleichmäßigeres Verhalten, wenn man sie nach je $7^1/_2$ Minuten Laufzeit abwechselnd für die gleiche Zeit in ihre gewohnte Umgebung (Käfig) zurückbringt. So liefert im unmittelbaren Anschluß an den Versuch Abb. 3a die gleiche Maus im „Pausenversuch" die Kurve Abb. 3b: Der Tellerwechsel stellt jetzt einen über 2 Stunden gleichbleibenden „Reizwert" dar. Daß es sich nicht um eine zufällige Bewegungsperiodik handelte, ging aus übereinstimmenden Kontrollversuchen (siehe Tabelle 1 und 2) hervor.

Bei einer Pausenlänge von $7^1/_2$ Minuten und bei einiger Übung können von einer Person gleichzeitig 5—6 Mäuse kontrolliert werden. Allerdings wäre dieses Vorgehen wegen des großen Tellerbedarfs unpraktisch, müßten doch pro Stunde und Maus 4 Teller, bei 6 Mäusen und 4stündiger Versuchsdauer nicht weniger als 100 Teller berußt werden! Andererseits erschien es nicht angängig, die Unterlage seltener zu wechseln (nach Forst nur alle 30 Minuten), weil lebhafte Tiere oft schon in $7^1/_2$ Minuten hohe Weißwerte erreichen und dann z. B. kein Spielraum für die Erkennung von Erregungseffekten übrigbleibt. Dies verhindert leider auch, mehrere Tiere auf eine Fläche zu setzen.

Deshalb versuchten wir zu ermitteln, ob und wie oft ein Teller eventuell mehrmals nacheinander benutzt werden kann. Das hätte zur Voraussetzung, daß für ein gleiches Tier die erreichte Zeitsumme des „Weißwertes" gleich ist, unabhängig davon ob es nach der Pause auf eine frische oder auf die alte Rußfläche zurückgesetzt wird. In einigen auf diese Frage abzielenden Versuchen wurde deshalb die gleiche Maus nach der jeweiligen Pause abwechselnd auf einen frischen bzw. auf den gleichen (durchgehenden) Teller gesetzt.

Verfügt man über Tiere mit besonders gleichmäßiger Beweglichkeit, so läßt sich zeigen, daß die fragliche Voraussetzung zutrifft (Abb. 4a). Der Weißwert des durchgehend verwandten Tellers wächst hier durch 2 Stunden im gleichen Grade wie die Weißwertsumme bei ständigem Wechsel des Tellers. Daraus folgt einerseits, daß die von uns vorgenommene „Korrektur" der Eichkurve zulässig ist, und andererseits, daß die Lebhaftigkeit der Tiere im Durchschnitt durch beide Verfahren gleichwertig wiedergegeben wird.

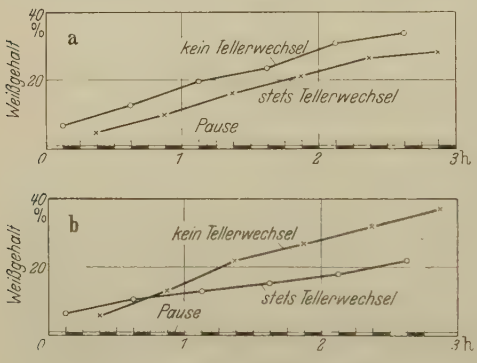


Abb. 4a u. b. Erklärung im Text.

Diese Feststellung gilt indessen nicht uneingeschränkt. So bleibt im Versuch 4b der Weißwert des durchgehend benutzten Tellers hinter der Weißsumme bei Tellerwechsel zurück. Die Abweichung beruht allerdings nicht, wie man annehmen könnte, auf einer „Gewöhnung" der Maus an den abgelaufenen, gewohnten Teller, sondern auf einem beherrschbaren Versuchsfehler: Dieser Teller war entweder nicht heiß genug berußt worden oder nachträglich (Wassergehalt der Expirationsluft) feucht geworden. Dadurch entsteht auf den anfänglich rein weißen Stellen nachträglich jener schmierige Graufilm, den wir schon im technischen Teil als Fehlerquelle erwähnten.

Aus diesen Vorversuchen leiteten wir schließlich folgendes Normalverfahren als zulässig und praktisch ab: Einsatz von maximal 6 Mäusen; Auswertung nach $7^1/_2$ Minuten Laufzeit im Wechsel mit $7^1/_2$ Minuten „Pause"; Benutzung des gleichen Tellers je nach Zustand bis zu korrigierten Weißwerten von etwa 30%. Demgemäß konnten wir bei normalen Mäusen einen Teller durchschnittlich 3—4mal benutzen, im Versuch mit Sedativen entsprechend öfter (bis 6mal). Auf diese Weise brauchen für eine 4stündige Versuchsreihe mit 6 Mäusen durchschnittlich nur 18 Teller berußt zu werden. Diese hält man bis zum Gebrauch am besten im Trockenschrank vorrätig.

Normalverhalten der Mäuse. Da völlige Ruhe über mehrere Minuten unvermittelt mit lebhaftem Umherlaufen abwechselt, ergibt die Darstellung von $7^1/_2$ Minuten-Werten noch große Schwankungen. Faßt man aber 4 Kurzperioden zu einem Stundenwert zusammen, so zeigt dieser während des 4stündigen Einzel-

versuchs meistens schon eine leidliche Konstanz. Tabelle 1 zeigt die Weißwerte des gleichen Tieres für die 1. bis 4. Versuchsstunde an 7 verschiedenen Tagen.

Tabelle 1.

Tage	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	Mittel aus 7 Tagen
Weißwert der 1. Stunde..	15,3	11,4	9,1	11,6	18,7	5,8	10,0	**11,7**
„ „ 2. „ ..	15,9	7,6	6,8	9,1	24,7	9,8	11,3	**13,8**
„ „ 3. „ ..	24,2	4,9	7,9	7,0	18,2	6,9	18,5	**12,5**
„ „ 4. „ ..	20,0	8,4	9,2	4,1	16,2	14,2	5,2	**11,0**
Mittel aus der 2.–4. Stunde	20,0	7,0	8,0	6,7	19,7	10,3	11,7	**11,5**
Mittel des Versuchs.....	**18,6**	**8,1**	**8,2**	**7,9**	**19,4**	**9,2**	**11,2**	**12,0**

In der gleichen Weise, wie es das in Tabelle 1 angeführte Beispiel zeigt, wurde auch das Normalverhalten aller anderen für die pharmakologischen Versuche bestimmten Tiere registriert, wobei jede Maus ein um den anderen Tag zum Versuch kam. In Tabelle 2 sind diese Ergebnisse zusammengefaßt:

Tabelle 2.

Tage	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	Mittel	Mittl. Fehler
Maus I	22,4	15,8	18,6	21,9	60,0	30,3	21,5	**27,2**	± 6,0
Maus II	45,8	27,7	31,9	37,4	24,9	23,5	15,1	**29,5**	± 3,9
Maus III ...	22,2	13,6	8,9	14,5	13,7	11,7	10,4	**13,6**	± 1,6
Maus IV	12,7	13,6	8,2	14.8	14,2	11,7	10,3	**12,2**	± 0,8
Maus V	19,8	8,9	49,6	19,9	22,7	26,9	15,8	**22,4**	± 4,9
Maus VI	18,6	8,1	8,2	7,9	19,4	9,3	11,1	**11,7**	± 1,9

Die Versuche gestatten ein Urteil über die individuell unterschiedliche Lebhaftigkeit der einzelnen Tiere und über die praktisch wichtigeren Schwankungen in der Lebhaftigkeit eines Tieres an verschiedenen Tagen. Die Kenntnis dieser normalen Tagesschwankungen ist für die Auswertung der pharmakologischen Ergebnisse sehr wichtig. Sie verbietet es, Schlußfolgerungen aus dem einfachen Vergleich zwischen „normalen" Mittelwerten und denen der Hauptversuche selbst bei einem gleichen Tiere zu ziehen und macht es notwendig, daß auch im Tierversuch genau so wie bei leistungsphysiologischen Untersuchungen am Menschen, (zu deren Kritik in letzter Zeit besonders Graf und Müller [7]) beigetragen haben, die „Ausgangslage" berücksichtigt wird. Auch für die Anwendung der vorliegenden Methode gilt deshalb der Grundsatz, daß man eine falsche Ausdeutung der Ergebnisse nur dann vermeiden kann, wenn man die unmittelbar vor Anstellung des pharmakologischen Versuchs herrschende individuelle Ausgangslage als Bezugsbasis heranzieht. Erst die prozentualen Abweichungen von der Ausgangslage des betreffenden Tieres am betreffenden Tage dürfen zur Bildung von signifikanten Mittelwerten herangezogen werden.

Besondere Fehlerquellen. Da die Anwendung des beschriebenen Verfahrens auf spezielle Fragestellung sich von selbst ergibt und hier nur das allgemeine Prinzip desselben besprochen werden sollte, kann auf die Anführung von Beispielen der Auswertung verzichtet werden. Es seien daher lediglich noch einige Erfahrungen mitgeteilt, die einerseits das Prinzip der Auswertung, anderseits besondere Fehlerquellen betreffen, welche bei seiner Anwendung nicht übersehen werden dürfen.

Der therapeutischen Verwendung der Sedativa würde es am besten entsprechen, wenn man die sedative Wirkung nach dem Beispiel von Kochmann [1]

auch im Tierversuch an der Aufhebung erregender Effekte bemessen könnte. Für einen so angelegten Versuchsplan eignet sich indessen die vorstehende Methode nach unserer Erfahrung weniger. Es zeigte sich nämlich, daß die einzelnen Tiere auf gleiche Coffeindosen sehr ungleichmäßige Steigerungen der Weißwerte ergaben. Während bei einzelnen Tieren selbst hohe Dosen ohne Wirkung auf den Weißwert blieben, lag die gleiche Dosis bei anderen Tieren schon eindeutig jenseits der erregenden Grenze und führte dann sogar zu einer Abnahme der mit der vorstehenden Methode erfaßbaren Bewegungsgröße. Es würde sich deshalb die Notwendigkeit ergeben, für jedes Tier die individuelle Dosis-Wirkungsbeziehung zu ermitteln, bevor überhaupt über seine Brauchbarkeit entschieden werden könnte. Diese Schwierigkeit nun beruht zum Teil auf einer grundsätzlichen Unvollkommenheit auch der vorliegenden Methode, die „Erregung" nur insofern erfaßt, als sie in lebhafterem Umherlaufen zum Ausdruck kommt. Das oft so charakteristische „Putzen" der Tiere, das gerade schwächeren Erregungsgraden entspricht, wird ja von der Rußfläche nicht wiedergegeben. Ebenso wie Forst beschränkten wir uns deshalb darauf, die zu prüfenden Sedativa zum Verhalten des unbehandelten Tieres im Vorversuch in Beziehung zu setzen (siehe oben).

Zur Kritik der Rußmethode als solcher gehört noch die Erwähnung einer weiteren, interessanten Fehlerquelle: Bei Versuchen mit Baldrian (der in Form von Baldrian-Dispert peroral gegeben wurde) beobachteten wir mit großer Häufigkeit als Wirkung gerade mittlerer Dosen ein eigenartiges Verhalten der Tiere. Im Gegensatz zu ihrem normalen Gang, der nur Fußspuren hinterläßt, „wischen" sie in diesem schon deutlich „beruhigten" Zustand die Rußfläche mit dem Hinterleib ab, indem sie sich mit den Hinterbeinen sozusagen rudernd, ähnlich wie bei einer Parese der hinteren Extremitäten, fortbewegen, wodurch das Bild an das bekannte komische Verhalten wurmkranker Hunde erinnert. Merkwürdigerweise findet es sich am häufigsten meistens gerade bei mittleren Dosen ausgeprägt, wie folgendes Beispiel zeigt:

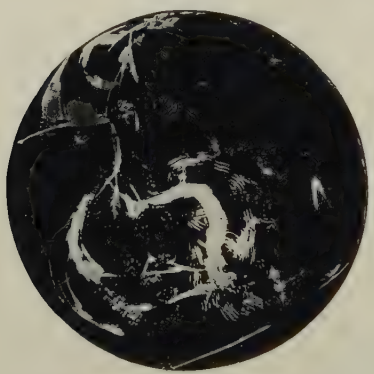


Abb. 5. Typische „Baldrianspur".

Dosis in mg/g	Reaktion bei je 6 Tieren					
0,4	−	−	−	+	+	+
0,8	−	−	+	+	+	+
1,4	−	+	+	+	+	+
2,0	−	−	−	−	+	+

Natürlich zeitigt dieses Verhalten zu hohe Weißwerte, die der tatsächlich vorhandenen Beruhigung nicht entsprechen. Wenn man indessen die charakteristischen Spurstreifen einmal gesehen hat (man beachte in Abb. 5 die Krallenspur der Hinterbeine), so wird man dieser Täuschung nicht unterliegen und derart verfälschte Zahlenwerte unberücksichtigt lassen.

Bewertung der Methode. Wägt man Vor- und Nachteile der Methode gegeneinander ab, so ergibt sich folgende Beurteilung: Den grundsätzlichen Vorzug einer ungehemmten Bewegung der Tiere teilt das Verfahren mit dem qualitativen Vorgehen. Das mehrfache Überlaufen der gleichen Stelle, das einen inhärenten Fehler des qualitativen Prinzips darstellt, kann bei seiner quantitativen Gestaltung rechnerisch korrigiert werden. Das Verfahren weist eine übersehbare Fehlerbreite auf und empfiehlt sich besonders für praktische Zwecke durch seine Einfachheit. Nachteilig ist, daß immerhin auch bei dieser Methode im wesentlichen nur horizontale

Bewegungen des Tieres erfaßt werden, wodurch besonders Erregungseffekte nur insofern adaequat wiedergegeben werden, als sich die Erregung lokomotorisch äußert. Für Gruppenversuche ist auch diese Methode vorläufig nicht brauchbar, so daß grundsätzlich der Wunsch nach einem Verfahren offen bleibt, bei dem Gruppen von Mäusen unter Vermeidung aller äußeren Eingriffe in ihrer natürlichen Umgebung verwendet werden könnten.

Zusammenfassung:

Das von Forst angegebene Verfahren zur Erkennung sedativer Wirkungen, bei dem Mäuse für bestimmte Zeit auf eine berußte Unterlage gesetzt werden, wird zu einer quantitativen Methode ausgebaut, indem man die Unterlage mittels eines Belichtungsmessers nach „Weißgehalt" auswertet. Dieses Vorgehen, das die Methode in ihrer Fehlerbreite beherrschbar macht, ist wie das ursprüngliche Verfahren einfach und für praktische Zwecke (Gewinnung relativer Werte) gut zu gebrauchen.

Literatur.

[1] Kochmann u. Kunze: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **181**, 421 (1935). — [2] Forst: Ebenda **189**, 288 (1938). — [3] Forst: Verh. dtsch. pharmak. Ges. Berlin 1938. — [4] Perez-Cirera: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **180**, 111 (1935). — [5] Druckrey u. Köhler: Ebenda **183**, 106 (1936). — [6] Druckrey, Müller u. Stuhlmann: Ebenda **185**, 222 (1937). — [7] O. Graf u. E. A. Müller: Arbeitsphysiologie **10**, 337 (1938).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Köln.
(Direktor: Prof. Dr. med. et phil. J. Schüller.)

Über den Einfluß antithyreotroper Substanzen auf Schilddrüse und Hypophysenvorderlappen bei der experimentellen Kohlenoxydhyperthyreose.

Von

Heinz Linnemann.

Mit 6 Textabbildungen.

(Eingegangen am 17. Februar 1939.)

Durch klinische und experimentelle Beobachtungen ist die Tatsache gesichert, daß Kohlenoxyd, besonders in Form oft wiederholter Vergiftungen, die Schilddrüse aktiviert[1]. Bei Untersuchungen über den Entstehungsmechanismus dieser Veränderungen konnten Kampelmann und Schulze[2] zeigen, daß beim Meerschweinchen der Gehalt des Hypophysenvorderlappens (HVL.) an thyreotropem Hormon dabei nicht, wie man vielleicht hätte erwarten können, vermehrt war, sondern eher vermindert. Daraus wurde geschlossen, daß an der Entstehung der Kohlenoxydhyperthyreose der HVL. unbeteiligt ist. Es steht aber auf Grund der vorliegenden Literatur durchaus die Frage noch offen, ob der Gehalt des HVL. an thyreotropem Hormon mit Sicherheit ein Maß für die produzierte Hormonmenge ist*, d. h. in unserem Falle, ob aus dem verminderten Hormongehalt mit Sicherheit auf eine verminderte Produktion und Abgabe ans Blut geschlossen werden darf.

Es schien deshalb der Versuch angezeigt, die Beteiligung oder Nichtbeteiligung des HVL. bei der CO-Hyperthyreose auf eine andere Weise zu klären, nämlich durch Zufuhr antithyreotroper Substanzen[3, 4], durch die die Möglichkeit einer Wirkung des HVL. auf die Schilddrüse ja weitgehend ausgeschaltet werden kann. Solche Substanzen sind beispielsweise im

[1] Literatur bei Schulze, E.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **180**, 639 (1936); Klin. Wschr. **1937**, S. 427. — [2] Kampelmann u. Schulze: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **184**, 152 (1937). — [3] Collip u. Anderson: Lancet **1934**, S. 78, 784; J. Physiol. (Brit.) **82**, 11 (1934). — [4] Loeser: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **184**, 23. Dortselbst auch weitere Literatur.

* In diesem Sinne sprechen eine Reihe von Beobachtungen: Kuschinsky: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **170**, 521 (1933); Eitel u. Loeser: Ebenda **177**, 744 (1935); Loeser: Ebenda **176**, 720 (1934); Loeser: Ebenda **189**, 357 (1938). Andere Ergebnisse lassen eine Deutung in diesem Sinne nicht zu: Grumbrecht, Keller, Loeser: Klin. Wschr. **1938**, S. 803; Arnold, Grumbrecht, Loeser: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 205 (1938); Grumbrecht u. Loeser: Ebenda **189**, 369 (1938); Simon: Ebenda **180**, 35 (1936); Kampelmann u. Schulze: Ebenda **184**, 154 (1937); Schulze u. Linnemann: Ebenda **189**, 452 (1938).

Serum von normalen oder entsprechend vorbehandelten Hammeln oder dem Handelspräparat Tyronorman gegeben.

Erfolgt die Aktivierung der Schilddrüse bei CO-Vergiftung tatsächlich nicht über den HVL., wie Kampelmann und Schulze annehmen, so müßte diese Aktivierung auch eintreten bei Gegenwart von antithyreotropen Substanzen, während sie unterdrückt oder gehemmt erscheinen müßte, wenn sie vermittels einer Mehrproduktion von thyreotropem Hormon zustande käme. Infolgedessen wurden CO-Vergiftungen vorgenommen einerseits an Normaltieren, andererseits an solchen Tieren, die gleichzeitig mit antithyreotroper Substanz (Hammelserum, Tyronorman) vorbehandelt waren und die Schilddrüsen vergleichend untersucht.

Zuerst wurden Versuche an Meerschweinchen gemacht.

In Vorversuchen, in denen 3 Serien von je 8 Meerschweinchen über verschieden lange Zeiträume (15, 20, 25 Tage) täglich 10—15 Minuten einer Atmosphäre von 0,5% CO ausgesetzt wurden (Einzelheiten der Methodik bei Kampelmann und Schulze[2]), hatten wir festgestellt, daß der Thyreoideaeffekt des Kohlenoxyds nach einer Vergiftung über 20 Tage am stärksten ausgeprägt ist. Die von Kampelmann und Schulze gewählte 15tägige Vergiftung ergibt einen geringeren Aktivierungsgrad.

Das zur Verwendung gelangende Serum (natives Hammelserum) haben wir nach dem Vorgehen von Eitel und Loeser[5] an der infantilen Meerschweinchenschilddrüse auf seine antithyreotrope Kraft ausgetestet. Laut dieser Auswertung besaß es in einer Menge von 12 ccm die Fähigkeit 5 MsE. (Meerschweinchen-Einheiten) thyreotropen Hormons zu hemmen.

Nach diesen Voruntersuchungen gestaltete sich der Hauptversuch wie folgt.

12 Meerschweinchen im Gewicht von 225—260 g wurden, wie oben angegeben, während 20 Tagen täglich 10—15 Minuten in einer Gaskammer mit Kohlenoxyd in einer Konzentration von 0,5% vergiftet. Am Ende einer jeden Vergiftung fielen regelmäßig einige Tiere in Krämpfe, erholten sich aber in frischer Luft bald. Zwischen den einzelnen Vergiftungen saßen die Tiere in geräumigen Käfigen bei gewöhnlicher Stallfütterung (Rüben und Heu) zusammen mit Normalkontrolltieren gleicher Beschaffenheit. Raumtemperatur annähernd konstant 22°. Zeit der Versuche: März. Sechs dieser Tiere erhielten zugleich vom 11. Tage an täglich 2 ccm des frisch gewonnenen Hammelserums intraperitoneal (Gesamtmenge: 20 ccm pro Tier). Am Tage nach der letzten Vergiftung wurden die Tiere durch Nackenschlag getötet und die Schilddrüsen zur histologischen Untersuchung entnommen. Die Auswertung der Schilddrüsen erfolgte nach den von Heyl und Laqueur[6] aufgestellten Kriterien, die in der Reihenfolge steigender Aktivität mit den Buchstaben *p*, *q*, *r*, *s*, *t*, *u* verschiedene Stufen der Schilddrüsentätigkeit bezeichnen.

Den Erfolg der Serumbehandlung auf die CO-Schilddrüse beim Meerschweinchen zeigt Abb. 1. Man sieht: Die Normalschilddrüse ist nach Heyl und Laqueur mit *q/r* zu bezeichnen. CO-Vergiftung in der von uns verwandten Form verändert die Schilddrüse im Sinne gesteigerter

[5] Eitel u. Loeser: Klin. Wschr. **1934**, S. 1677; Naunyn-Schmiedebergs Arch. **177**, 746 (1935). — [6] Heyl u. Laqueur: Arch. intern. Pharmacodyn. et Thér. **49**, 338 (1934).

Tätigkeit fast bis zur Stufe *s*. Die Zufuhr antithyreotroper Substanzen vermochte das Auftreten der durch CO verursachten Hyperthyreose nicht zu hindern. Im einzelnen ist der Grad der Aktivierung bei den Serumtieren nicht ganz so stark wie bei den „Nur-CO-Tieren". Diese Tatsache erscheint beachtenswert und wird weiter unten ihre sinngemäße Erklärung finden.

In quantitativer Hinsicht ist zu diesem Serumversuch noch folgendes zu sagen: Einerseits wurde antithyreotrope Substanz in einer Menge zugeführt — jedes Tier hatte 20 ccm Hammelserum erhalten —, die entsprechend unserer obigen Auswertung die Fähigkeit besaß, etwa 8—9 MsE. thyreotropen Hormons zu hemmen. Andererseits zeigt die CO-Schilddrüse, auch die nicht mit Serum behandelte, einen Grad der Aktivierung, wie er schon vergleichsweise durch Zufuhr von 1—2 MsE. thyreotropen Hormons

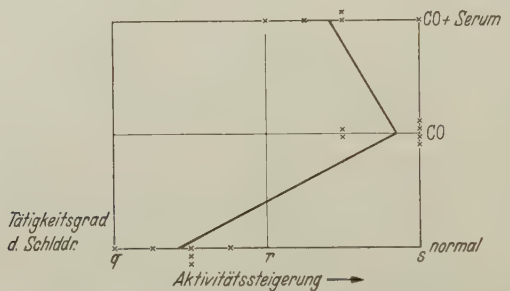


Abb. 1. Veränderungen an der Meerschweinchenschilddrüse durch CO allein und bei gleichzeitiger Behandlung mit normalem Hammelserum. Die jeweiligen Mittelwerte sind miteinander verbunden.

beim Normaltier erzielt werden kann. Um eine solche Menge thyreotropen Hormons zu hemmen, wären aber nur etwa 4—6 ccm Hammelserum notwendig gewesen, während wir sogar 20 ccm je Tier anwandten. Man erkennt aus dieser einfachen Rechnung, daß die von uns angesetzte Menge antithyreotroper Substanz bei weitem ausreichte, den HVL. — selbst im Falle einer vermehrten inkretorischen Leistung — auszuschalten. Wenn dennoch, wie wir sahen, die Schilddrüsen durch Kohlenoxyd aktiviert wurden, so muß das in dem Sinne gedeutet werden, daß der HVL. an der Entstehung der CO-Hyperthyreose, jedenfalls beim Meerschweinchen unbeteiligt ist.

Es fragt sich jedoch, ob dieser Befund auch auf andere Tierarten ausgedehnt werden kann. Zwar ist bekannt, daß durch Kohlenoxyd auch bei Meerschweinchen, Mäusen, Kaninchen, Hunden, Katzen eine Aktivierung der Schilddrüse stattfindet, jedoch mußte in diesem Zusammenhang besonders das Verhalten der Ratte interessieren, da sie schon normalerweise ein stark aktives Schilddrüsenbild und einen entsprechend reichlichen Gehalt des HVL. an thyreotropem Hormon aufweist[7] und auf Kohlenoxydbeeinflussung noch nicht untersucht wurde.

[7] Junkmann u. Schoeller: Klin. Wschr. **1932**, S. 1177.

Dementsprechend wurde geprüft:

1. Wird auch die an sich schon sehr aktive Rattenschilddrüse durch CO zu verstärkter Tätigkeit angeregt?
2. Gelingt es mit antithyreotropen Substanzen die möglicherweise auch an der Rattenschilddrüse auftretende Aktivierung zu beeinflussen?
3. Wie verhält sich dabei der Gehalt des HVL. an thyreotropem Hormon?

Allerdings war folgendes zu bedenken: Zur Ausschaltung der stark wirksamen Rattenhypophyse genügt antithyreotrope Substanz in der Menge, wie sie in normalem Hammelserum vorkommt nicht mehr (Eitel und Loeser[8]), es müßten vielmehr Präparate mit stärkerer antithyreotroper Kraft zur Verwendung gelangen. Zu diesem Zweck benutzten wir einmal das Serum von einem Hammel, der durch Zufuhr großer Mengen thyreotropen Hormons vorbehandelt war und zweitens das von den Sächsischen Serumwerken hergestellte Tyronorman*.

Die Herstellung des mit antithyreotroper Substanz angereicherten Serums geschah nach den Angaben von Eitel und Loeser[5].

Einem etwa 50 kg schweren Hammel wurden täglich 1200 MsE. thyreotropen Hormons** subcutan injiziert. Nach 5 Wochen solcher Behandlung entnahmen wir dem Tier aus der vena jugularis 500 ccm Blut und bereiteten daraus das Serum. Die Auswertung an der infantilen Meerschweinchenschilddrüse ergab, daß 12 ccm 30 MsE. thyreotropen Hormons zu hemmen vermochten.

Tyronorman ist ein Blutextrakt und besitzt ähnliche antithyreotrope Eigenschaft wie obiges Serum. E. Simon[9] konnte nämlich zeigen, daß Tyronorman imstande ist bei täglicher Zufuhr von 2 Tabletten über 12—15 Tage die Rattenschilddrüse in einen extremen Ruhezustand zu versetzen. Diese Beobachtung konnten wir in einer Reihe von Vorversuchen bestätigen.

Um Vergleichswerte zu schaffen, prüften wir, bevor wir zum Hauptversuch schritten, den Einfluß dieser beiden antithyreotropen Substanzen auf Schilddrüse und HVL. bei der normalen Ratte.

2 Serien von je 6 Ratten wurden unter den üblichen einheitlichen Versuchsbedingungen gehalten. Die Tiere der einen Serie erhielten an 6 aufeinanderfolgenden Tagen je 2 ccm des angereicherten Serums intraperitoneal, entsprechend unserer Auswertung also insgesamt 30 antithyreotrope Einheiten. Die Tiere der anderen Serie erhielten 12 Tage täglich 2 Tabletten Tyronorman je Tier. Laut Angabe des

---

* Dem Sächsischen Serumwerk Dresden danken wir für die Überlassung des Tyronormans auch an dieser Stelle.

** Für die Überlassung der hierzu erforderlichen großen Mengen thyreotropen Hormons danken wir Herrn Prof. Dr. Schoeller (Schering-Kahlbaum A.-G.) verbindlichst.

[8] Eitel u. Loeser: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **177**, 743 (1935). — [9] Simon: Ebenda **180**, 28 (1936).

Herstellers vermag 1 Tablette die Wirkung von 1 MsE. thyreotropen Hormons zu hemmen. Die in unserem Falle zugeführte Gesamtmenge betrug also 24 antithyreotrope Einheiten. Die Tabletten wurden in einem Mörser zerrieben und den Tieren unter das Futter gemischt. Am Tage nach der letzten Behandlung wurden die Ratten durch Nackenschlag getötet, Schilddrüsen und Hypophysen der beiden Versuchsreihen ausgewertet. Als Kontrolle dienten die entsprechenden Untersuchungen unbehandelter Normaltiere. Wir beurteilten die Rattenschilddrüse nach der Methode von Kampelmann[10], der mit den Zahlen V, IV, III, II, I Stufen steigender Aktivität bezeichnet.

Zur Auswertung des HVL. auf Gehalt an thyreotropem Hormon bedienten wir uns der Übertragungsmethode. Dabei werden die zu untersuchenden HVL. den Tieren sogleich nach dem Tode steril entnommen, in steriler physiologischer Kochsalzlösung zerrieben und infantilen Meerschweinchen im Gewichte von 120 bis 150 g i. p. injiziert. Die Menge des in den übertragenen HVL. enthaltenen thyreotropen Hormons bestimmt dann den Grad der Tätigkeit der Empfängerschilddrüse.

Die Angaben verschiedener Autoren über diese Methodik unterscheiden sich dadurch, daß die einen an zwei aufeinanderfolgenden Tagen je 1, die anderen je 2 HVL. übertragen. In Voruntersuchungen stellten wir fest, daß die Übertragung von insgesamt 2 HVL. auf ein infantiles Meerschweinchen genügt, um charakteristische Veränderungen an der Schilddrüse des Empfängertieres auszulösen und eine einwandfreie Auswertung zu gestatten. Wir übertrugen also stets nur 2 HVL.

Das Ergebnis dieser Untersuchungen war folgendes: Die Schilddrüsen beider Versuchsreihen waren in extremem Ruhezustand, der Gehalt der HVL. an thyreotropem Hormon war jedoch gegenüber der Norm nur ganz unwesentlich verringert. In beiden Serien genügte also die Art unserer Behandlung, den Einfluß des HVL. auf die Schilddrüse gänzlich auszuschalten.

Darauf gestaltet sich der Hauptversuch mit CO folgendermaßen:

40 Ratten (100—180 g) wurden 20 bzw. 21 Tage täglich 10—15 Minuten mit 0,5% CO vergiftet. Tierhaltung in Einzelkäfigen, Fütterung: Küchenabfälle, Kartoffeln. Die Tiere kamen nach einer 14tägigen Vorperiode in den Versuch, während der sie unter gleichen Bedingungen gehalten wurden. Als Kontrollen dienten 16 Ratten gleicher Herkunft, die unter denselben Versuchsbedingungen lebten. Zeit: Februar/März. Die Tiere wurden in 3 Gruppen eingeteilt: Gruppe A, insgesamt 20 Tiere, wurde lediglich CO-vergiftet, Gruppe B, 10 Tiere, erhielt während der letzten 6 Vergiftungstage täglich je Tier 2 ccm des angereicherten Hammelserums i. p., Gruppe C, auch 10 Tiere, erhielt während der letzten 12 Vergiftungstage je Tier 2 Tabletten Tyronorman täglich. Am Tage nach der letzten Vergiftung wurden die Ratten durch Nackenschlag getötet und Schilddrüsen und Hypophysen entsprechend weiteruntersucht.

Generell ist zu dem Auswertungsergebnis zu sagen, daß der Grad der Aktivierung der Rattenschilddrüse durch das Kohlenoxydgas viel stärker ist als beim Meerschweinchen. Um das recht anschaulich zu machen, sei auf die beiden Mikrophotogramme (Abb. 2 u. 3) hingewiesen, auf denen eine normale Rattenschilddrüse und eine CO-Schilddrüse nebeneinandergestellt sind.

[10] Kampelmann: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **184**, 141 (1937).

Wie im einzelnen der Grad der Aktivierung bei den verschiedenen untersuchten Gruppen ist, zeigt Abb. 4. Es sind die nach der Methode von Kampelmann gefundenen Werte eingetragen.

Wenn die Normalschilddrüse entsprechend dieser Auswertung durch einen Wert von etwa IV/III charakterisiert ist, so haben die Schilddrüsen sämtlicher CO-vergifteter Tiere einen Tätigkeitsgrad von III/II; d. h. es ist eine Aktivierung um mehr als eine Stufe eingetreten, gleichgültig, ob

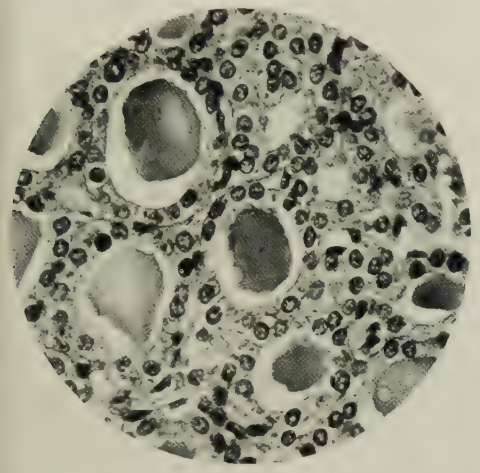


Abb. 2. Normale Rattenschilddrüse. Große Follikel, Epithel mit rundem oder ovalem Kern, kein Protoplasmasaum oder nur angedeutet.

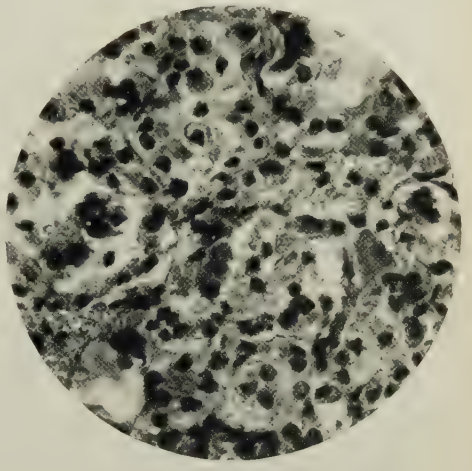


Abb. 3. Rattenschilddrüse nach CO-Vergiftung. Kleine Follikel, Epithel erhöht, Kerne rund, Protoplasmasaum von Kerndicke, Follikellumen durch das sich vorwölbende Epithel stark eingeengt, nur noch vereinzelt Kolloid.

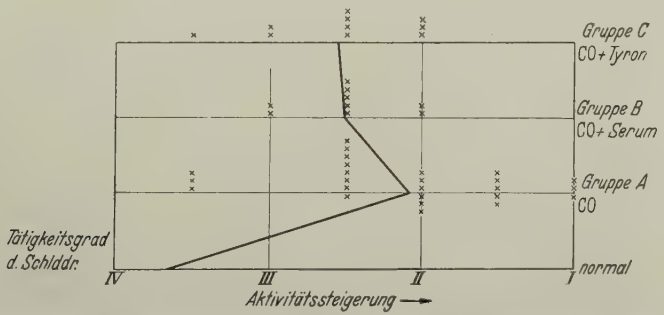


Abb. 4. Veränderungen der Rattenschilddrüse durch CO allein und bei gleichzeitiger Gabe antithyreotroper Substanzen. Mittelwerte miteinander verbunden. Erläuterungen im Text.

die Ratten wie in Gruppe B zusätzlich mit Serum oder mit Tyronorman (Gruppe C) behandelt wurden.

Vergleicht man im einzelnen den Grad der Aktivierung durch CO allein und bei gleichzeitiger Serumgabe bzw. Tyronormangabe, so kann man bei den Tieren, denen antithyreotrope Substanz zugeführt wurde, einen

etwas geringeren Grad der Aktivierung feststellen. Auf diesen Unterschied wurde bereits bei den Meerschweinchenversuchen hingewiesen. Ihre Erklärung findet diese Tatsache darin, daß in der einen Versuchsgruppe (Nur-CO-Tiere) sich auf den unbekannten Faktor, über den das Kohlenoxyd seinen aktivierenden Einfluß auf die Schilddrüse geltend macht, noch die Wirkung eines normal funktionierenden HVL. superponiert; in den Gruppen dagegen, wo antithyreotrope Substanz zugeführt wurde, ist dieser zweite Faktor ausgeschaltet und erklärt so den etwas geringeren Grad der Schilddrüsentätigkeit.

Um quantitativ beurteilen zu können, ob die Art unserer Vorbehandlung mit antithyreotroper Substanz zur vollständigen Ausschaltung des HVL., auch im Falle vermehrter thyreotroper Inkretion, ausreichend war, haben wir folgenden Versuch angeschlossen:

9 Ratten injizierten wir in 3 Gruppen bekannte Mengen thyreotropen Hormons i. p. und zwar Gruppe 1 je 10 MsE., Gruppe 2 je 20 MsE., Gruppe 3 je 40 MsE. Diese Hormongaben erhielten die Ratten je zur Hälfte an 2 aufeinanderfolgenden Tagen. 24 Stunden nach der letzten Injektion wurden die Tiere durch Nackenschlag getötet und die Schilddrüsen wie üblich ausgewertet. Als Kontrollen dienten die Schilddrüsen von Normaltieren gleicher Beschaffenheit.

Das Ergebnis ist kurz folgendes: Schon nach Zufuhr von 10 MsE. thyreotropen Hormons sind Veränderungen an der Rattenschilddrüse sichtbar. Während der Normalschilddrüsenwert wieder bei IV/III liegt, zeigt die Schilddrüse der mit 10 MsE. thyreotropen Hormons behandelten Tiere im Mittel einen Wert von III/(II). Nach Zufuhr von 20 MsE. liegt der Mittelwert bei II, in Gruppe 3 endlich (40 MsE.) sehen wir stets Schilddrüsen stärkster Aktivierung.

Andererseits hatten, wie oben gezeigt, die Schilddrüsen der mit CO vergifteten Ratten einen Aktivierungsgrad, der nicht ganz der Stufe II entsprach (Abb. 4), wie wir ihn auch mit 20 MsE. thyreotropen Hormons beim Normaltier erzielen konnten. Bei der Vorbehandlung der Tiere mit antithyreotroper Substanz haben wir aber in der einen Gruppe B 30 antithyreotrope Einheiten zugeführt (12 ccm Serum), in der anderen Gruppe C 24 antithyreotrope Einheiten (24 Tabletten Tyronorman); d. h. in jeder Gruppe sind antithyreotrope Substanzen im Überschuß zugeführt worden. Wenn trotzdem eine starke Aktivierung der Schilddrüse durch CO eingetreten ist, so ist daraus der Schluß gerechtfertigt, daß auch bei der Ratte die CO-Hyperthyreose nicht über den HVL. zustande kommt.

Wie die Untersuchungen von Kampelmann und Schulze beim Meerschweinchen gezeigt haben, ist bei der CO-Hyperthyreose der Gehalt des HVL. an thyreotropem Hormon vermindert. Wie sich die HVL. der Ratten nach CO-Vergiftung verhalten, gibt Abb. 5 wieder. Als Ausdruck für den Gehalt der untersuchten Hypophysen an thyreotropem Hormon sind die Schilddrüsenauswertungen der Testmeerschweinchen eingetragen und zwar getrennt für die verschiedenen untersuchten Gruppen. Als

Kontrolle die Hypophysenauswertung von 10 normalen Ratten. Wie man leicht erkennen kann, besteht kein wesentlicher Unterschied in dem Gehalt der HVL. an thyreotropem Hormon bei den verschiedenen Serien, lediglich ist auch hier bei allen mit CO behandelten Tieren eine leichte Verminderung im Hormongehalt festzustellen.

Setzt man Schilddrüsentätigkeit und Gehalt der jeweiligen HVL. an thyreotropem Hormon für die einzelnen Versuchsgruppen in Beziehung, so sieht man: Den aktiveren CO-Schilddrüsen entsprechen HVL., deren

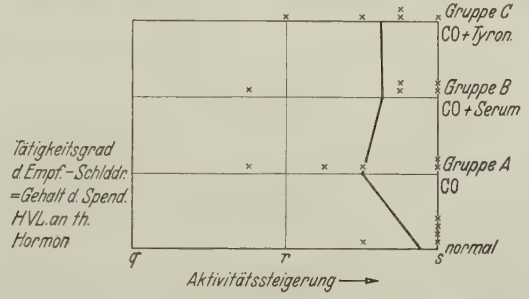


Abb. 5. Gehalt der HVL. an thyreotropem Hormon bei den verschiedenen untersuchten Gruppen. Mittelwerte miteinander verbunden.

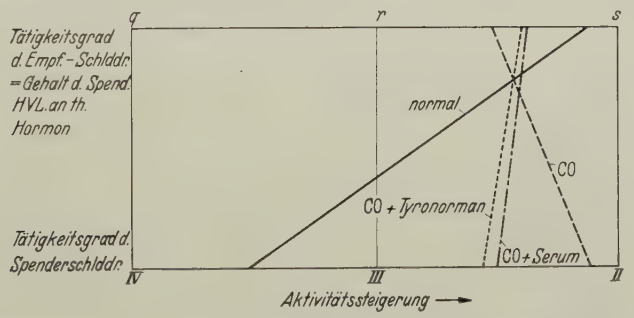


Abb. 6. Schilddrüsentätigkeit und Gehalt des HVL. an thyreotropem Hormon bei normalen und CO-vergifteten Ratten.

Gehalt an thyreotropem Hormon, verglichen mit Normalwerten, etwas vermindert ist. Als Ausdruck für den Gehalt der Spenderhypophysen an thyreotropem Hormon gelten die Schilddrüsenauswertungen der Testmeerschweinchen, denen die Hypophysen übertragen wurden. Abb. 6 läßt dieses gegensinnig gerichtete Verhalten von Schilddrüsentätigkeit und Hypophysengehalt an thyreotropem Hormon deutlich erkennen.

Es hat sich in unseren Untersuchungen gezeigt, daß antithyreotrope Substanzen weder beim Meerschweinchen noch bei der Ratte die Entstehung der Kohlenoxydhyperthyreose zu hindern vermögen. Die Auswertung der Rattenhypophysen ergab — entsprechend den Ergebnissen von Kampelmann und Schulze beim Meerschweinchen —, daß der

Gehalt des HVL. an thyreotropem Hormon leicht vermindert ist. Aus diesen Resultaten muß geschlossen werden, daß der HVL. an der Entstehung der CO-Hyperthyreose unbeteiligt ist. Es besteht allerdings noch die Möglichkeit anzunehmen, entweder CO vergrößere entscheidend die Ansprechbarkeit der Thyreoidea für thyreotropes Hormon oder CO verringere die im Serum vorhandene antithyreotrope Substanz bzw. hemme deren Wirksamkeit. Beide Möglichkeiten scheinen uns nicht hinreichend gerechtfertigt und anfechtbar durch den Hinweis, daß selbst übergroße Dosen antithyreotroper Substanz die CO-Hyperthyreose nicht hindern konnten. Damit gewinnt die Annahme an Wahrscheinlichkeit, daß die CO-Aktivierung der Schilddrüse auf nervösem Wege zustande kommt[11].

Zusammenfassung.

CO erzeugt, wiederholt gegeben, bei Meerschweinchen und Ratte eine Hyperthyreose, die durch antithyreotrope Substanzen (Hammelserum, Tyronorman) nicht verhindert werden kann. Daraus wird geschlossen, daß diese CO-Aktivierung der Schilddrüse nicht über den Hypophysenvorderlappen (thyreotropes Hormon) erfolgt, sondern wahrscheinlich über nervöse Bahnen zustande kommt. Gleichzeitig wird festgestellt, daß der Gehalt des Hypophysenvorderlappens an thyreotropem Hormon durch CO etwas verringert wird.

[11] In diesem Zusammenhang s. auch Sunder-Plassmann: Dtsch. Z. Chir. **244**, 736 (1935).

Aus dem Balneologischen Institut der Hansischen Universität Hamburg, Bad Oeynhausen und dem Krankenhaus St. Georg, Hamburg.
(Leitung: Prof. Dr. Gollwitzer-Meier.)

Über die Veränderungen der Wasserstoffionenkonzentration des Blutes im experimentellen Kreislaufschock.

Von

E. Lerche.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 18. Februar 1939.)

Im experimentellen Histamin- und Peptonschock verschiebt sich die aktuelle Reaktion des Arterienblutes zur sauren Seite[1, 2, 3, 4]. Die Ursache dieser Reaktionsverschiebung wird vornehmlich in einem primären Alkaliverlust gesehen, den man als Begleiterscheinung des Plasmaaustrittes aus den Gefäßen auffaßt[1, 2, 5, 6]. Danach müßte man erwarten, daß der primäre Alkaliverlust und mit ihm die Acidose im Blute am stärksten bei denjenigen experimentellen Schockformen ist, bei denen die protoplasmatischen Koeffizienten des Schocks[4] im Vordergrund stehen, also besonders beim Histamin- und Peptonschock, daß dagegen beim zentralnervösen Schock, bei dem nach Eppinger[7] protoplasmatische Koeffizienten fehlen und Plasmaverschiebungen zwischen Blut und Gewebe nicht bekannt sind, auch die Reaktionsverschiebung nach der sauren Seite ausbleibt. Untersuchungen über das Verhalten der Blutreaktion im experimentellen zentralnervösen Kreislaufschock scheinen bisher nicht vorzuliegen.

Wir haben in einer ersten Versuchsreihe das Verhalten der aktuellen Blutreaktion im Histamin- und Peptonschock untersucht, in einer zweiten Versuchsreihe die aktuelle Reaktion bei experimenteller Ausschaltung der Gefäßzentren gemessen.

Methode.

Die Versuche wurden an insgesamt siebzehn 12—20 kg schweren Hunden in Morphin-Chloralosenarkose ausgeführt.

Durchweg künstliche Beatmung (Starling-Pumpe) bei geöffnetem Brustkorb. Beiderseitige Phrenicotomie.

---

[1] Bigwood, E. J., P. Cogniaux u. R. Collard: C. r. Soc. Biol. **91**, 118 (1924). — [2] Gollwitzer-Meier, Kl.: Z. exper. Med. **51**, 466 (1926). — [3] Alzona, L.: Arch. Sci. med. **60**, 841 (1935). — [4] Gollwitzer-Meier, Kl.: Verh. dtsch. Ges. Kreisl.forsch. 1938. — [5] Dautrebande, L.: Ann. Soc. Sci. méd. et natur. Brux. **8**, 123 (1924). — [6] Alsina, F. D.: C. r. Soc. Biol. **100** 1098 (1929). — [7] Eppinger, H. und Mitarbeiter: „Die seröse Entzündung", Jul. Springer 1935.

Die aktuelle Blutreaktion wurde fortlaufend mittels Glaselektrode und Röhrenvoltmeter gemessen. Bei diesem von Gollwitzer-Meier[8] ausgearbeiteten Verfahren treten Strömungspotentiale praktisch nicht in Erscheinung[9]. — Durch verschiedene Maßnahmen ließ sich die störungsfreie Registrierung der Blutreaktion vervollkommnen: 1. Aufladungen des Elektrodensystems von Seiten elektrostatischer Fremdfelder konnten durch weitgehende Verwendung keramischer Isolierstoffe verhindert werden. 2. Auf die gleiche Weise war es möglich, jede Störung durch niederfrequente magnetische Wechselfelder (Starling-Pumpe) auszuschalten, ohne daß sich eine Abschirmung des Meßgerätes als notwendig erwies. 3. Kompensationsvorrichtungen zwischen Elektrodenkette und Verstärkereingang kamen in Fortfall. Dadurch ließ sich der Isolationsweg zwischen Gitter und Kathode der Elektrometerröhre erheblich verlängern und die Belastung der Glaselektrode auf ein Minimum reduzieren. — Die p_H-Messung erfolgte im Blute der Art. carotis communis, die Registrierung optisch.

Neben dem Blutdruck (Art. femoralis) verzeichneten wir in mehreren Versuchen den Druck der oberen Hohlvene, der Lungenarterie und des linken Vorhofs mittels Frankscher Spiegelsegmentkapseln.

Die Gefäßzentren in der Medulla oblongata wurden durch suboccipitale Injektion von 1—2 ccm einer 10%igen Novocainlösung nach dem von P. Trendelenburg[10] angegebenen Verfahren ausgeschaltet.

Als Schockgifte verwandten wir Histamin (Hoffmann-la Roche) und sogenanntes histaminfreies Pepton*, in Ringer gelöst und durch Phosphatpuffer neutralisiert. Sämtliche Tiere wurden mit Heparin (Promonta) vorbehandelt.

Wir haben in fast allen Versuchen die Lichtdurchlässigkeit des arteriellen Blutes photoelektrisch nach Kramer[11] gemessen. Mit diesem Verfahren lassen sich Änderungen der arteriellen Sauerstoffsättigung registrieren unter der Voraussetzung einer konstanten Blutkörperchenkonzentration. Da es nun gerade im Histamin- und Peptonschock regelmäßig zu einer starken Bluteindickung kommt, bestimmten wir in kleinen Zeitabständen das Sauerstoffbindungsvermögen des Blutes nach van Slyke, gleichzeitig den arteriellen Sauerstoffgehalt und die Gesamtkohlensäure.

I. Veränderungen der Wasserstoffionenkonzentration des Blutes im experimentellen Histamin- und Peptonschock.

Die folgenden Versuche sind ausschließlich bei künstlicher Lungenventilation durchgeführt worden. Das geschah aus zwei Gründen: 1. pflegt die im Histamin- und Peptonschock regelmäßig veränderte Lungenatmung den Reaktionsverlauf im Arterienblut erheblich zu modifizieren[12, 13]. Dadurch wird eine Beurteilung jener Störungen im Säurebasengleichgewicht, die anderen Einflüssen zuzuschreiben sind, erschwert. — 2. lassen sich im zentralnervösen Schock Versuche mit spontaner Atmung experimentell nicht durchführen (siehe unten). Da aber unsere Fragestellung gleiche experimentelle Bedingungen für beide Versuchsreihen fordert, mußten auch im Histamin- und Peptonschock sämtliche Tiere künstlich beatmet werden.

* Von der Firma Friedrich Witte uns freundlicherweise zur Verfügung gestellt.

[8] Gollwitzer-Meier, Kl., H. Haeussler u. E. Krüger: Pflügers Arch. **229**, 120 (1937). — [9] Haeussler, H.: Ebenda **229**, 143 (1937). — [10] Trendelenburg, P. in Heffters II. Handb. d. Pharmak. 1924, Bd. 2, Seite 223. — [11] Kramer, K.: Z. Biol. **96**, 61 (1935). — [12] Bigwood, E. J.: C. r. Soc. Biol. **91**, 395 (1924). — [13] Gollwitzer-Meier, Kl.: Z. exper. Med. **51**, 466 (1926).

a) Histaminschock.

Den typischen Verlauf der aktuellen Reaktion des Arterienblutes im Beginn des Histaminschocks zeigt Abb. 1. Nach intravenöser Injektion von 3 mg Histamin verschiebt sich die p_H-Kurve mit dem Abfall des Blutdrucks vorübergehend zur sauren Seite, erreicht nach 2—3 Minuten wieder ihr Ausgangsniveau* und sinkt dann erneut ab.

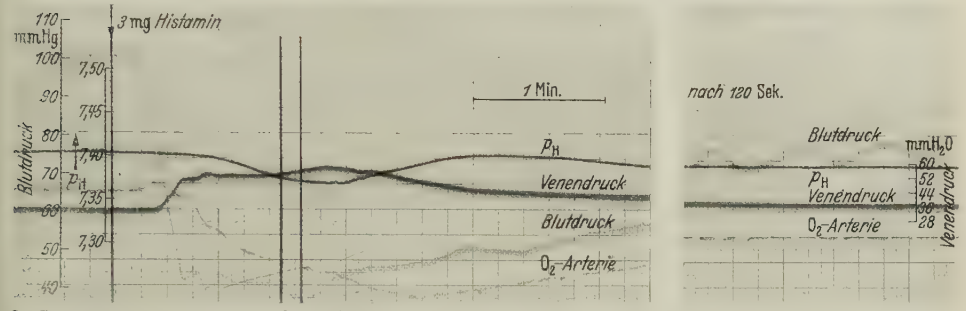


Abb. 1. Hund, 18 kg. Künstliche Beatmung. Initiale Reaktionsschwankungen im Arterienblut nach intravenöser Injektion einer mittleren Histamindosis. — Zwei Minuten später: p_H stellt sich auf ein neues Niveau ein. Keine wesentliche Störung des venösen Rückflusses. — Bei Doppelliehtzeichen Blutentnahme.

Über die Ursachen dieser initialen zweiphasischen Reaktionsverschiebung geben die Ergebnisse der Blutgasanalysen Aufschluß.

Wir haben der Übersichtlichkeit halber auf eine tabellenmäßige Zusammenstellung verzichtet und die Gaswerte in die Originalkurven an den Punkten eingezeichnet, an denen die entsprechenden Blutproben der Art. femoralis entnommen waren.

Wir sehen in Abb. 1 noch vor dem Einsetzen der p_H-Verschiebung ein Sinken der Photometerkurve. Dies bedeutet lediglich eine Abnahme der Lichtdurchlässigkeit des arteriellen Blutes, ohne daß gesagt ist, ob es sich um eine Eindickung des Blutes handelt oder um eine Abnahme seiner Sauerstoffsättigung. Wie aus den Blutgasanalysen hervorgeht, ist die Sauerstoffkapazität bereits 1 Minute nach den Histamininjektion um 2,6 Vol% angestiegen: Das Blut hat sich stark eingedickt. Gleichzeitig aber zeigen die Analysen auch einen Abfall der arteriellen Sauerstoffsättigung von 86 auf 63 %. — Auf der einen Seite hat also ein erheblicher Plasmaverlust stattgefunden, der wahrscheinlich von einem entsprechend großen Alkaliverlust begleitet ist, auf der anderen Seite ist das Arterienblut stark anoxämisch geworden.

* Gelegentlich auch Werte, die etwas unterhalb des ursprünglichen Niveaus liegen.

Das Absinken der arteriellen Sauerstoffsättigung nach Histamin ist zuerst von Kroetz und Rühl beschrieben und auf eine Endothelfunktionsstörung in der Lunge bezogen worden, die nach Rühl auf einem Präödem der Lungenkapillaren beruht und den Durchtritt für Sauerstoff erschwert[14, 15].

Durch das Sauerstoffdefizit im Arterienblut wird Alkali zur Kohlensäurebindung frei[16, 17, 18, 19], ein Vorgang, der die aktuelle Reaktion des Blutes nach der alkalischen Seite verschieben muß. Umgekehrt vermindert die gleichzeitige Abwanderung von Alkali aus der Blutbahn die zur Kohlensäurebindung verfügbaren basischen Valenzen und begünstigt damit eine Reaktionsverschiebung nach der sauren Seite. Im Sinne einer Reaktionsverschiebung nach der sauren Seite wirkt schließlich noch ein dritter Vorgang, nämlich ein Anstieg der Kohlensäurespannung im Blute (siehe Abb. 1). Auf ihn schließen wir aus dem Anstieg der Gesamtkohlensäure bei gleichzeitig sinkendem p_H (Berechnung nach Hasselbalch-Henderson). Diese Zunahme der arteriellen Kohlensäurespannung im Beginn des Histaminschocks weist auf eine vorübergehende Kohlensäureretention, die nicht auf einer Änderung des Atemvolumens beruhen kann, das ja in unseren Versuchen konstant gehalten wird. Wir möchten daher annehmen, daß sich die Gasaustauschstörung in den Lungen im Beginn des Histaminschocks nicht nur auf den Sauerstoff, sondern auch auf die Kohlensäure erstreckt, wobei die Diffusionsstörung für Kohlensäure, die im Gegensatz zu der für Sauerstoff nur ganz vorübergehend ist, andere Ursachen haben muß. Es ist deshalb zu erwägen, ob nicht außer einem „kapillaren Ödem" Bronchokonstriktionen an der Entstehung der Gasdiffusionsstörung beteiligt sind. Rühl[20] fand bei Versuchen an der Katze neben dem arteriellen Sauerstoffdefizit nur eine Abnahme der arteriellen Kohlensäure und hielt daher eine Beteiligung von Bronchokonstriktionen an der Gasdiffusionsstörung für unwahrscheinlich. Auch seine Atemkurven sprechen gegen das Auftreten stärkerer Bronchalkrämpfe. — Wir haben in mehreren Versuchen die Atmung mit dem Stoffwechselspirometer nach Krogh in Verbindung mit der Starlingschen Ventilationspumpe aufgezeichnet und beobachteten in den meisten Fällen unmittelbar nach der Histamininjektion einen kurzen, sehr steilen Anstieg des Exspirationsvolumens, der sich durch ein Lungenödem oder eine Änderung der Lungendurchblutung nicht erklären läßt. Dieser Befund macht es in hohem Maße wahrscheinlich, daß im Beginn des Histaminschocks — jedenfalls beim Hund — Bronchokonstriktionen für die Entstehung des gestörten Gasaustausches in den Lungen mitverantwortlich sind.

[14] Kroetz, Chr.: Verh. dtsch. Ges. inn. Med. **41**, 449 (1929); **43**, 165 (1931). — [15] Rühl, A.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **158**, 282 (1930). — [16] Christiansen, J., C. G. Douglas u. I. S. Haldane: J. Physiol. (Brit.) **48**, 244 (1914). — [17] Joffe, J., u. E. P. Poulton: Ebenda **54**, 129 (1920). — [18] Slyke, D. D. van, A. B. Hastings, J. H. Neill, H. Heidelberger u. Harrington: J. biol. Chem. (Am.) **60**, 89 (1924). — [19] Peters, J. P., u. D. D. van Slyke: Quant. clin. Chem. Vol. 1. London Bailliere. Tindall 1931. — [20] Rühl, A.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **158**, 282 (1930).

An der initialen Reaktionsverschiebung nach der sauren Seite kann demnach sowohl die Zunahme der Kohlensäurespannung im Arterienblut als auch die Abwanderung von Alkali aus der Blutbahn ursächlich beteiligt sein. Dagegen setzt sich die Wirkung der Anoxämie auf die Blutreaktion nicht durch. Während der zweiten Phase, in der die aktuelle Reaktion vorübergehend nach der alkalischen Seite verschoben wird, geht das arterielle Sauerstoffdefizit nur wenig zurück, desgleichen hat sich auch die Bluteindickung kaum geändert. Der Einfluß, der von diesen beiden Faktoren auf die Blutreaktion ausgeht, bleibt also in der zweiten Phase annähernd derselbe wie in der ersten. Daß die p_H-Kurve dennoch auf ihren Ausgangswert zurückkehrt, hängt allein damit zusammen, daß jetzt die Kohlensäurespannung im Blute sinkt, die Bronchokonstriktion also wohl gelöst ist.

Viel wichtiger als diese initialen Reaktionsschwankungen ist die dritte Dauerphase, in der sich die p_H-Kurve ein zweites Mal nach der sauren Seite verschiebt. Während der Reaktionsverlauf in den beiden ersten Phasen verhältnismäßig unabhängig von der verwandten Histamindosis ist, wird das Verhalten der aktuellen Reaktion in Phase 3 sehr weitgehend von der Größe der injizierten Dosis bestimmt.

Nach kleinen und mittleren Histamindosen (0,01—0,2 mg/kg) sinkt p_H nur selten um mehr als 0,05 und stellt sich binnen kurzem auf ein neues Niveau ein, wobei die tiefsten p_H-Werte im allgemeinen höher liegen als in der ersten Phase (siehe Abb. 1). Die Acidose bleibt unverändert bestehen, während sich der Kreislauf sehr rasch zu erholen pflegt, das Minutenvolumen ansteigt (Gollwitzer-Meier[21]), der Arterien- und Venendruck seine Anfangshöhe wieder erreicht.

Als Ursache dieser anhaltenden p_H-Senkung nach kleinen und mittleren Histamindosen dürfte von den genannten Faktoren nur der Plasmaverlust und der ihn begleitende Alkaliverlust des Blutes in Betracht kommen, da einerseits die Kohlensäurespannung in Phase 3 nicht mehr erhöht ist, andererseits aber bei unveränderter Bluteindickung die arterielle Sauerstoffsättigung nach ihrem initialen Tiefstand um einige Prozent zugenommen hat.

Bei Verwendung größerer Histamindosen (0,5—2,0 mg/kg) hängt das Verhalten der Blutreaktion in Phase 3 hauptsächlich von hämodynamischen Faktoren ab. Erholt sich der Kreislauf innerhalb kurzer Zeit und treten keine wesentlichen Störungen des venösen Rückstromes zum Herzen auf, so verhält sich die Blutreaktion wie nach kleinen und mittleren Histamindosen, wir finden eine anhaltende Acidose, die sich lediglich mit der Eindickung des Blutes ändert. Kommt es dagegen zu ausgesprochenen Störungen des venösen Rückflusses und dadurch zu einer Senkung des Herzminutenvolumens[22], so pflegt die Acidose in Phase 3 sehr viel schwerer zu sein, als der Plasmaverlust des Blutes erwarten ließe.

[21] Gollwitzer-Meier, Kl.: Verh. dtsch. Ges. Kreisl.forsch. 1938. — [22] Gollwitzer-Meier, Kl., u. E. Gelhaar: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **161**, 325 (1931).

Auf eine Verminderung des venösen Rückflusses zum Herzen glaubten wir in allen den Fällen schließen zu dürfen, in denen der Venendruck nach größeren Histamindosen tief absank, zumal atemmechanische Faktoren in

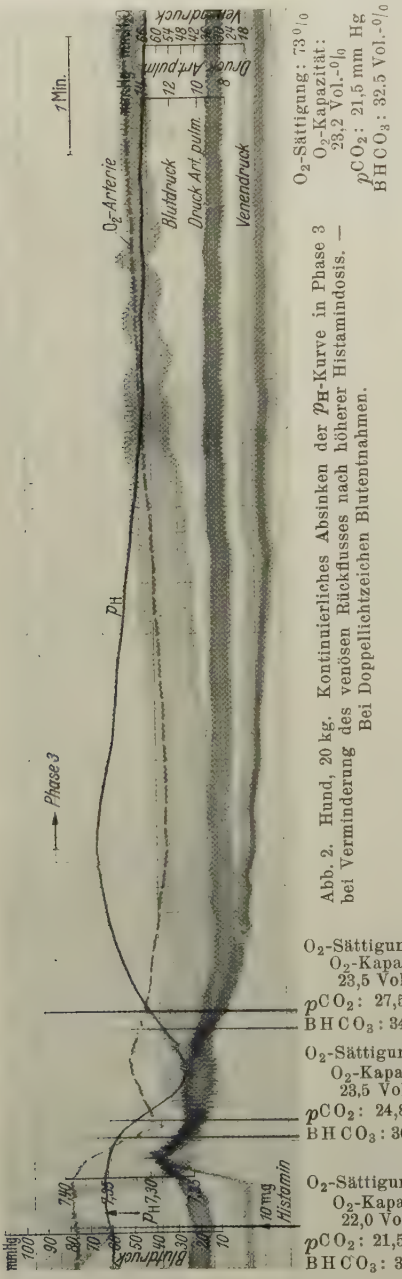


Abb. 2. Hund, 20 kg. Kontinuierliches Absinken der p_H-Kurve in Phase 3 bei Verminderung des venösen Rückflusses nach höherer Histamindosis. — Bei Doppellichtzeichen Blutentnahmen.

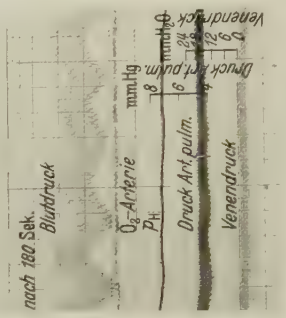


Abb. 2 (Fortsetzung).

unseren Versuchen ausgeschaltet sind. Den Venendruck haben wir in der oberen Hohlvene direkt an ihrer Einmündungsstelle in den rechten Vorhof gemessen und in den meisten Versuchen mitregistriert.

Abb. 2 gibt einen Versuch wieder, in dem der Venendruck nach 10 mg Histamin tief sinkt und lange Zeit erniedrigt bleibt*. Wir sehen zunächst im Anschluß an die Injektion jene schon besprochenen initialen Reaktionsschwankungen, die hier besonders deutlich ausgeprägt sind, weil die Kohlensäureretention im Beginn des Schocks recht erheblich ist (vgl. Abb. 1) und eine tiefe p_H-Senkung zur Folge hat. Doch kehrt p_H beim Abklingen der Kohlensäurestauung trotz der Eindickung des Blutes auf den Ausgangswert zurück, da das starke arterielle Sauerstoffdefizit offenbar genügend alkalische Valenzen zur Verfügung stellt, um den primären

* Es wurde in diesem Versuch absichtlich keine allzu hohe Histamindosis gegeben, um einen vorzeitigen Tod des Tieres nach Möglichkeit zu vermeiden.

Verlust an Alkali vollkommen auszugleichen. In diesem Punkt beginnt die Phase 3, in der die Sauerstoffsättigung des Arterienblutes allmählich wieder um einige Prozent steigt und dadurch alkalische Valenzen bindet, während die Bluteindickung nahezu unverändert bleibt. Infolgedessen verschiebt sich p_H erneut nach der sauren Seite, stellt sich aber nicht wie in Abb. 1 auf ein festes Niveau ein, sobald die arterielle Sauerstoffsättigung einen konstanten Wert angenommen hat, sondern sinkt kontinuierlich weiter ab, obwohl die Eindickung des Blutes auch jetzt noch unverändert geblieben ist.

Dieses anhaltende, vom Plasmaverlust des Blutes unabhängige Sinken der p_H-Kurve sahen wir ausschließlich bei Versuchen, in denen der Venendruck nach Histamin stark fiel und lange Zeit niedrig blieb. Wir sind daher der Ansicht, daß die nach sogenannten Schockdosen auftretende Acidose nicht allein durch die primäre Abwanderung basischer Valenzen hervorgerufen wird, sondern außerdem noch mit der Verminderung des venösen Rückstromes zum Herzen in ursächlichem Zusammenhang steht.

b) Peptonschock.

Die Veränderungen der aktuellen Blutreaktion im Peptonschock gleichen denen im Histaminschock so weitgehend, daß sich eine Wiedergabe von Originalkurven erübrigt. Geringe Unterschiede ergeben sich lediglich im Ausmaß der Reaktionsverschiebungen.

Zunächst ist die initiale p_H-Senkung sehr viel geringer als im Histaminschock und in manchen Fällen sogar nicht einmal andeutungsweise vorhanden. Wir möchten daher annehmen, daß unter der Wirkung von Pepton eine Austauschstörung für Kohlensäure in den Lungen entweder überhaupt nicht zustande kommt oder aber nur sehr flüchtig stattfindet, zumal ein Anstieg der arteriellen Kohlensäurespannung im Beginn des Schocks nicht sicher nachweisbar ist.

Auch die zweite Phase der initialen Reaktionsschwankung zeigt gewöhnlich eine etwas andere Verlaufsform als beim Histaminschock. Während dort die p_H-Kurve nach ihrem initialen Abfall auf ihr Ausgangsniveau zurückkehrt, wechselt sie im Peptonschock vielfach nach der alkalischen Seite hinüber und sinkt erst gegen Ende der Phase 2 wieder ab. Die Entstehung dieser vorübergehenden Alkalose führen wir darauf zurück, daß die Bluteindickung nicht — wie im Histaminschock — unmittelbar nach der Injektion schlagartig auftritt, sondern sich allmählich zu entwickeln pflegt, um meist erst in Phase 3 mit Sicherheit nachgewiesen zu werden. Wir dürfen also in Phase 2 noch nicht mit einer primären Abwanderung basischer Valenzen rechnen, wohl aber mit einem vermehrten Angebot; denn im Anschluß an die Peptoninjektion nimmt die arterielle Sauerstoffsättigung — ähnlich wie auch nach Histamin — plötzlich ab,

und Alkali wird zur Kohlensäurebindung frei, so daß die Blutreaktion nach der alkalischen Seite verschoben werden muß.

Gegen Ende der Phase 2 findet man allerdings ein Sauerstoffdefizit im Arterienblut gewöhnlich nicht mehr vor. Der Sauerstoffaustausch in den Lungen scheint demnach bei Verwendung von histaminfreiem Pepton nur vorübergehend gestört zu sein*.

Während der dritten Dauerphase verschiebt sich p_H in jedem Falle mit der zunehmenden Eindickung des Blutes nach der sauren Seite. Doch pflegt die p_H-Senkung nach kleinen Peptondosen (0,05—0,1 g/kg) auch bei stärkerer Bluteindickung verhältnismäßig gering auszufallen, sofern sich nur der Kreislauf nach dem Eingriff rasch wieder erholt**. Kommt es hingegen bei Injektion größerer Peptonmengen (0,2—0,4 g/kg) zur Verminderung des venösen Rückflusses und dadurch zu einer Herabsetzung des Herzminutenvolumens, so kann die entstehende Acidose wesentlich schwerere Formen annehmen, ohne daß die Bluteindickung besonders hochgradig sein muß. Der Reaktionsverlauf während der dritten Dauerphase scheint also auch im Peptonschock von hämodynamischen Faktoren erheblich beeinflußt zu werden.

II. Veränderungen der Wasserstoffionenkonzentration des Blutes im zentralnervösen Kreislaufschock.

Die Ausschaltung der Gefäßzentren in der Medulla oblongata führt zu einem Tonusverlust des gesamten peripheren Gefäßsystems[23]. Kapillarmikroskopische Untersuchungen ergeben eine starke Erweiterung der Strombahn bei hochgradiger Stromverlangsamung[24, 25]. Permeabilitätsveränderungen der Kapillarwände kommen dabei nicht zustande[26]. Der zentralnervöse Kreislaufschock unterscheidet sich demnach vom Histamin- und Peptonschock hauptsächlich durch das Fehlen protoplasmatischer Faktoren.

Bei Ausschaltung der Gefäßzentren im Kopfmark durch suboccipitale Novocaininjektion tritt regelmäßig eine Lähmung des Atemzentrums auf. Wir haben daher sämtliche Tiere von vornherein künstlich beatmen müssen (siehe S. 310).

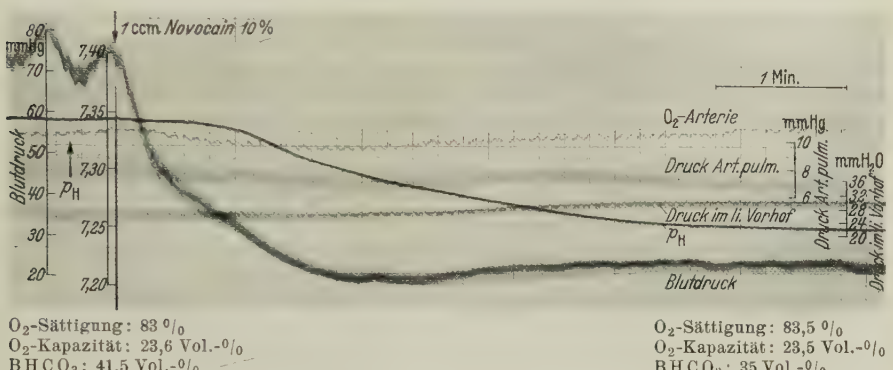
Abb. 3 zeigt die Änderungen der aktuellen Reaktion im Arterienblut bei Ausschaltung der Gefäßzentren durch Novocain. Unmittelbar nach

* Vgl. unveröffentlichte Versuche von Laszlo und Schürmeyer; zit. bei A. Rühl: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **158**, 282 (1930).

** Mit der von Eppinger („Die seröse Entzündung") vorgeschlagenen Peptondosis (0,1 g/kg) haben wir nur selten einen ausgesprochenen Schock hervorrufen können. Gewöhnlich mußten wir die doppelte bis vierfache Dosis des von uns verwandten „histaminfreien" Pepton geben, um eine Verminderung des venösen Rückflusses zu erzielen.

[23] Tigerstedt, R.: Physiologie des Kreislaufes, Bd. 4 (1923). — [24] Koch, E., u. M. Nordmann: Z. exper. Med. **61**, 505 (1928). — [25] Rühl, A.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **148**, 24 (1930). — [26] Eppinger, H., u. Mitarbeiter: „Die seröse Entzündung". Jul. Springer 1935.

der Novocaininjektion fällt der Blutdruck steil ab und erreicht schon nach $1^1/_2$ Minuten einen Wert von 24 mm Hg. Etwa 20 Sekunden später, noch ehe der Blutdruck seinen tiefsten Wert erreicht hat, fällt auch p_H — etwas weniger steil, doch vollkommen gleichmäßig — von 7,34 auf 7,25.



O_2-Sättigung: 83 %
O_2-Kapazität: 23,6 Vol.-%
$BHCO_3$: 41,5 Vol.-%

O_2-Sättigung: 83,5 %
O_2-Kapazität: 23,5 Vol.-%
$BHCO_3$: 35 Vol.-%

Abb. 3. Hund, 16 kg. Reaktionsverlauf im Arterienblut bei Ausschaltung der bulbären Gefäßzentren durch suboccipitale Novocaininjektion. Trotz fehlender Bluteindickung starke p_H-Senkung. Frühzeitiger Anstieg des Drucks im linken Vorhof als Ausdruck einer sekundären Herzschädigung.

Dabei findet weder eine Eindickung des Blutes statt noch eine Verdünnung, wie sie Eppinger[27] zuweilen beobachten konnte. Auch die Sauerstoffsättigung bleibt trotz des daniederliegenden Kreislaufs nahezu unverändert. Bei einem Blutdruck von nur mehr 20 mm Hg vermag sich das Blut also noch ausreichend mit Sauerstoff zu sättigen.

In den meisten Versuchen war es nicht möglich, das Verhalten der Blutreaktion über längere Zeit zu verfolgen. Denn bei experimenteller Ausschaltung der Gefäßzentren nimmt die Volumleistung des Herzens mit fortschreitendem Kleinerwerden des Arteriendrucks gewöhnlich sehr rasch ab (siehe auch Abb. 3)[28]. Nur in einem einzigen Versuch blieb das Herz bei einem Arteriendruck von 30—10 mm Hg genügend leistungsfähig, um die Blutzirkulation bis über das Abklingen der Novocainwirkung hinaus aufrechtzuerhalten. Dieser Fall kommt in Abb. 4 zur Darstellung. Ähnlich wie in Abb. 3 fällt die p_H-Kurve zuerst verhältnismäßig steil, bis der Arteriendruck ein Niveau von 30 mm Hg eingenommen hat, die Gefäßzentren also offenbar vollständig gelähmt sind (Abb. 4a). Alsdann verschiebt sich p_H wesentlich langsamer nach der sauren Seite, sinkt aber kontinuierlich weiter und erreicht im Laufe von 3 Stunden einen Wert von unter 7,10 (siehe Abb. 4b) gegen einen Anfangswert von 7,46.

Etwa eine halbe Stunde nach der Novocaininjektion machten wir die merkwürdige Beobachtung, daß der Arteriendruck bei einem p_H von 7,28 sein Niveau von 30 mm Hg plötzlich verließ und mit der kontinuierlich sinkenden p_H-Kurve

[27] Eppinger, H. u. Mitarbeiter: „Die seröse Entzündung". Jul. Springer 1935. — [28] Rühl, A.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **148**, 24 (1930).

allmählich bis auf 10 mm Hg fiel, ohne daß der Venendruck stieg, ohne daß also eine Herzinsuffizienz auftrat. Diesen, von zentralen Vorgängen sicherlich un-

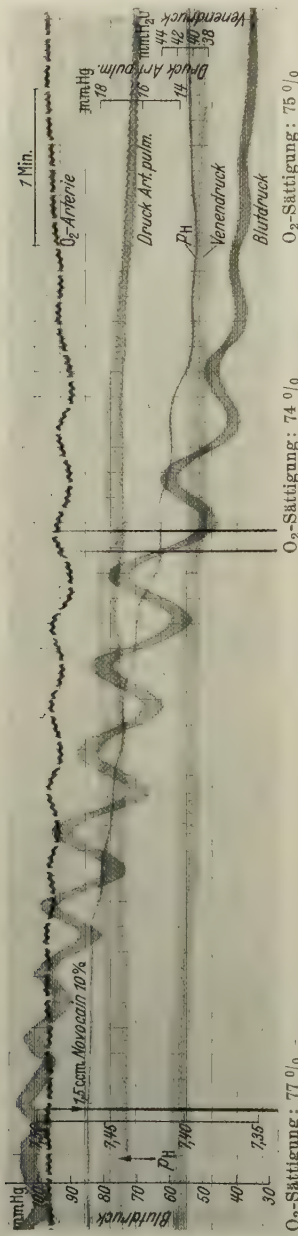


Abb. 4a. Hund, 20 kg. Starkes Absinken der p_H-Kurve nach suboccipitaler Novocaininjektion. Sämtliche Drucke fallen, eine Herzinsuffizienz tritt nicht auf. — Bei Doppellichtzeichen Blutentnahme.

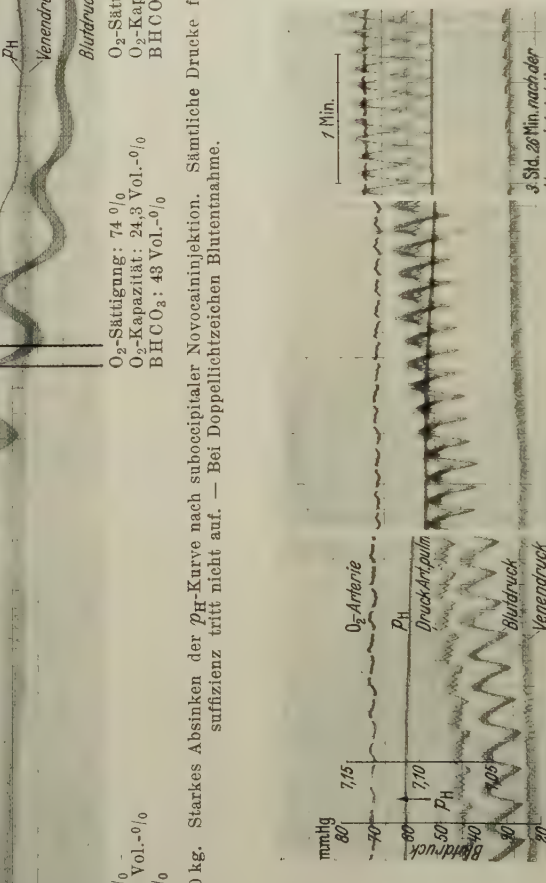


Abb. 4b. Drei Stunden später: Abklingen der Novocainwirkung. Sämtliche Drucke steigen, p_H stellt sich auf einen konstanten Wert ein.

abhängigen Abfall des Arteriendruckes möchten wir auf einen vasodilatorischen Säureeffekt beziehen.

Eine Eindickung des Blutes findet auch in diesem Versuch zunächst nicht statt*. Desgleichen bleibt die arterielle Sauerstoffsättigung unverändert.

Über 3 Stunden hält die Lähmung der Gefäßzentren an. Dann klingt die Novocainwirkung allmählich ab. Sämtliche Drucke beginnen zu steigen, und die p_H-Kurve stellt sich nunmehr auf einen konstanten Wert ein (Abb. 4b).

III. Diskussion.

Unsere Versuche haben als wichtigsten Punkt ergeben, daß sich die aktuelle Reaktion des Arterienblutes nicht nur im Histamin- und Peptonschock, sondern auch im zentralnervösen Kreislaufschock nach der sauren Seite verschiebt. Dieser Befund ist insofern überraschend, als wir von der allgemeinen Auffassung ausgingen, daß die im Kreislaufschock entstehende Acidose in erster Linie auf die protoplasmatischen Koeffizienten des Schocks zu beziehen sei. Der zentralnervöse Kreislaufschock stellt aber den Prototyp der rein hämodynamischen Form des Schocks dar (Eppinger), und wir hätten deshalb erwarten müssen, daß in ihm die p_H-Senkung ausbliebe oder zumindest wesentlich geringer sei als im Histamin- und Peptonschock, den beiden Repräsentanten der protoplasmatischen Form des Schocks. Indessen sahen wir gerade beim zentralnervösen Schock die weitaus stärksten Reaktionsverschiebungen im Blut. — Wir ziehen aus dieser Tatsache zunächst den Schluß, daß es nicht in jedem Falle protoplasmatische Faktoren sein müssen, die zur Acidose im Kreislaufschock führen, sondern daß auch rein hämodynamische Faktoren unter Umständen Ursachen der Acidose sein können. — Damit ist aber noch nicht erklärt, warum die p_H-Senkung bei Lähmung der Gefäßzentren um so viel hochgradiger ausfällt als im Histamin- und Peptonschock! Wenn wir daran festhalten, daß die Acidose im zentralnervösen Schock lediglich auf hämodynamische Faktoren, im Histamin- und Peptonschock dagegen hauptsächlich auf protoplasmatische Faktoren zurückgeht, so können diese Unterschiede im Ausmaß der p_H-Senkung nur darauf beruhen, daß bestimmte hämodynamische Faktoren, die im Histamin- und Peptonschock weniger zur Geltung kommen als im zentralnervösen Schock, einen besonders starken Einfluß auf die Reaktionslage im Blute haben.

Wir hatten bereits in unserer ersten Versuchsreihe die Beobachtung gemacht, daß die p_H-Senkung nach größeren Histamin- und Peptondosen besonders hochgradig war, wenn der venöse Rückstrom zum Herzen abnahm, und bezogen diese von protoplasmatischen Faktoren unabhängige

* Die geringe Erhöhung der O_2-Kapazität in Abb. 4b ist etwa $2^1/_2$ Stunden nach der Novocaininjektion aufgetreten und dürfte mit der hochgradigen Verlangsamung der Blutzirkulation in Zusammenhang stehen, also sekundärer Natur sein (vgl. Krogh: „Anatomie und Physiologie der Kapillaren").

p_H-Senkung auf eine Herabsetzung des Herzminutenvolumens. Nun ist aber die Minutenvolumenverminderung unter der Wirkung von Histamin und Pepton selten nur annähernd so stark wie bei experimenteller Ausschaltung der Gefäßzentren, da in einem Falle venokonstriktorische Reaktionen – vor allem im Beginn des Schocks – eine maximale Erweiterung der venösen Strombahn zu verhindern pflegen[29], im anderen Falle sämtliche Gefäße zur gleichen Zeit ihren Tonus verlieren. Wir kommen daher zu dem Schluß, daß die schwere Acidose im Blute bei zentraler Vasomotorenlähmung durch die hochgradige Verminderung des Herzminutenvolumens verursacht wird, während die p_H-Senkung im Histamin- und Peptonschock in erster Linie auf protoplasmatische Faktoren zurückzuführen ist.

Zusammenfassung.

1. Im experimentellen Histamin- und Peptonschock verschiebt sich die aktuelle Reaktion des Arterienblutes nach der sauren Seite (fortlaufend registriert am künstlich beatmeten Hund).

2. Nach kleineren Histamin- und Peptondosen ist diese Reaktionsverschiebung verhältnismäßig gering. Sie geht der Eindickung des Blutes parallel und wird auf eine primäre Abwanderung basischer Valenzen aus der Blutbahn bezogen.

3. Größere Histamin- und Peptondosen führen nur unter der Bedingung zu einer wesentlich stärkeren p_H-Senkung, daß gleichzeitig der venöse Rückfluß zum Herzen herabgesetzt ist.

4. Die im Beginn des Schocks regelmäßig auftretenden Reaktionsschwankungen werden durch initiale Störungen des Gasaustausches in der Lunge verursacht.

5. Im zentralnervösen Kreislaufschock kommt es zu einer weit stärkeren Acidose im Blut als beim Histamin- und Peptonschock. Die p_H-Senkung kann bis zu 0,37 betragen. Sie wird im wesentlichen als Folge einer Herabsetzung des Herzminutenvolumens aufgefaßt.

[29] Gollwitzer-Meier, Kl.: Verh. dtsch. Kreisl.forsch. 1938.

Aus dem Chemischen Laboratorium der Technischen Hochschule in Timișoara und der Zoologischen Station zu Agigea (Rumänien).

Untersuchungen über die Permeabilität lebender Membranen. VIII.

Wirkung der Adsorptionserscheinungen auf die Penetration des Saponins in die Zellen des Kiemenepitheliums von „Atherina hepsetus L.“[1].

Von

Eugen Macovski und Eufrosine Macovski.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 23. Februar 1939.)

In der vorigen Mitteilung[1] haben wir versucht, die zwischen der Konzentration tensioaktiver Gifte und der Vergiftungszeit bestehenden Beziehungen aufzuklären, um zu einer neuen, für tensioaktive Gifte und antekritische Vergiftungssymptome gültigen Vergiftungsgleichung zu gelangen. Als Ausgangspunkt diente die bekannte Eigenschaft oberflächenaktiver Stoffe, sich an den Grenzflächen der Lösung mit anderen Phasen anzureichern, woraus wir schließen konnten, daß an der Oberfläche lebender Membranen, welche sich in Lösungen tensioaktiver Gifte befinden, eine dünne Lösungsschicht entsteht, die das Gift in einer höheren Konzentration (Grenzphasekonzentration r) als in der übrigen Lösung (Volumphasekonzentration c) enthält. Wenn nun die Penetration tensioaktiver Gifte durch lebende Membranen von der Giftkonzentration in dieser, die Membranoberfläche umhüllenden Grenzschicht der Lösung abhängt, und wenn der Penetrationsvorgang in bezug auf die Grenzphasekonzentration des Giftes dem Fickschen Diffusionsgesetz folgt, dann wäre es zu erwarten, daß die antekritischen Vergiftungssymptome nach der Vergiftungsgleichung (1):

$$(r - r_0)\,\tau = k \tag{1}$$

auftreten, wo r_0 die „maximale ungiftige Grenzphasekonzentration“ des Giftes, τ die Vergiftungszeit und k eine Konstante bedeuten. Da man aber die Grenzphasekonzentration der tensioaktiven Gifte nicht kennt und in jeder für die Versuche verwendeten Lösung nur die Volumphasekonzentration c des Giftes bekannt ist, nahmen wir weiterhin an, daß die Beziehung zwischen den beiden Phasenkonzentrationen r und c durch Adsorptionsisotherme (2):

$$r = f(c) \tag{2}$$

[1] VII. Mitteilung: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 628 (1939).

gegeben ist. In dieser Weise stellten wir auf Grund der Formel (1) die Abhängigkeit zwischen der Vergiftungszeit und Volumphasekonzentration c durch die Vergiftungsgleichung (3):

$$[f(c) - f(c_0)]\,\tau = k \qquad (3)$$

dar und zeigten, daß Gleichung (3) unter Verwendung der Adsorptionsisotherme von H. Freundlich die Form (4):

$$(ac^b - ac_0^b)\,\tau = k, \qquad (4)$$

und unter Verwendung der Adsorptionsisotherme von I. Langmuir die Form (5):

$$\left(\frac{c}{\alpha + \beta c} - \frac{c_0}{\alpha + \beta c_0}\right)\tau = k \qquad (5)$$

annimmt. Diese letztere Formel (5) erlaubt nun eine vereinfachte Vergiftungsgleichung (6):

$$(c - c_0)(\tau + m) = K \qquad (6)$$

abzuleiten, in der den Konstanten m und K die Bedeutung (7) bzw. (8):

$$m = -k\beta \qquad (7) \qquad\qquad K = k\alpha + 2k\beta c_0 \qquad (8)$$

zukommt, und welche nur dann gilt, wenn die Bedingung (9):

$$k\frac{\beta^2}{\alpha}\,c\,c_0 \ll K \qquad (9)$$

erfüllt ist[2]. Nachdem die Vergiftungsgleichungen (4), (5) und (6) abgeleitet waren, haben wir ihre Anwendbarkeit an Hand unserer früheren, mit Cetylchinoleiniumchlorid an „Atherina hepsetus L." ausgeführten Vergiftungsversuchen geprüft. Es hat sich ergeben, daß diese Gleichungen mit den Ergebnissen der genannten Versuche im Einklang stehen.

Im folgenden wollen wir die Anwendbarkeit obiger Vergiftungsgleichungen auf die Ergebnisse unserer mit Saponin an „Atherina hepsetus L." ausgeführten Versuche prüfen (Tabelle 1)[3]. Da Saponin ein

Tabelle 1[3].

c = Volumphasekonzentration des im Meerwasser gelösten Saponins in Gramm/Liter; τ = zum Auftreten der Atemfrequenzverminderung nötige Zeit in Minuten (Vergiftungszeit).

Versuchsreihe	$c \cdot 10^4$	τ	Versuchsreihe	$c \cdot 10^4$	τ
1	1308	3	6	488	18
2	952	5	7	440	23
3	769	7	8	392	27
4	676	10,5	9	344	37
5	583	13	10	296	52

[2] Die Vergiftungsgleichung (6) gestattet in einer besonders einfachen Weise die Verhältnisse für den Fall abzuleiten, wo es sich um das Auftreten postkritischer Vergiftungssymptome in Abhängigkeit von der Volumphasekonzentration tensioaktiver Gifte handelt. Darüber werden wir in einer späteren Mitteilung berichten. — [3] III. Mitteilung: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **188**, 405 (1938); s. Tab. 3, S. 410.

Tabelle 2.

Versuchsreihen	$c_0 \cdot 10^4$	m	Versuchsreihen	$c_0 \cdot 10^4$	m
1—2— 3	198,8	1,23	2—5—10	171,5	3,92
1—2— 4	427,9	— 0,06	2—6— 7	251,6	1,62
1—2— 5	329,4	0,50	2—6— 8	153,3	4,38
1—2— 6	282,3	0,76	2—6— 9	180,1	3,63
1—2— 7	274,9	0,80	2—6—10	172,7	3,83
1—2— 8	239,2	1,00	2—7— 8	— 16,6	11,05
1—2— 9	228,8	1,06	2—7— 9	150,9	5,16
1—2—10	209,9	1,17	2—7—10	157,3	4,94
1—3— 4	520,9	— 1,16	2—8— 9	202,7	2,44
1—3— 5	366,4	— 0,01	2—8—10	179,5	3,35
1—3— 6	296,2	0,47	2—9—10	163,1	4,52
1—3— 7	283,7	0,60	3—4— 5	1234,0*	— 28,01 ●
1—3— 8	243,0	0,90	3—4— 6	— 4140,6*	179,05 ●
1—3— 9	230,7	0,99	3—4— 7	— 367,0	32,23
1—3—10	210,4	1,15	3—4— 8	— 301,0	29,75
1—4— 5	10,0	4,90	3—4— 9	35,1	19,76
1—4— 6	140,8	3,35	3—4—10	47,3	16,66
1—4— 7	189,4	2,77	3—5— 6	43,1	10,97
1—4— 8	156,9	3,16	3—5— 7	158,3	6,70
1—4— 9	175,6	2,94	3—5— 8	95,7	8,72
1—4—10	172,6	2,97	3—5— 9	142,9	7,20
1—5— 6	196,8	2,33	3—5—10	148,8	7,01
1—5— 7	226,7	1,91	3—6— 7	241,9	2,40
1—5— 8	179,7	2,56	3—6— 8	121,7	7,20
1—5— 9	190,5	2,41	3—6— 9	164,7	5,60
1—5—10	181,7	2,54	3—6—10	161,8	5,74
1—6— 7	255,1	1,26	3—7— 8	136,4	21,03
1—6— 8	169,9	2,82	3—7— 9	131,4	8,01
1—6— 9	188,8	2,47	3—7—10	145,4	7,33
1—6—10	179,4	2,64	3—8— 9	198,8	3,25
1—7— 8	41,9	6,17	3—8—10	175,0	4,51
1—7— 9	163,1	3,38	3—9—10	158,0	6,13
1—7—10	165,3	3,33	4—5— 6	292,4	— 2,67
1—8— 9	205,3	1,89	4—5— 7	292,9	— 2,70
1—8—10	182,8	2,48	4—5— 8	227,7	— 0,94
1—9—10	167,3	3,23	4—5— 9	222,7	— 0,81
2—3— 4	563,7	— 2,75	4—5—10	202,3	— 0,27
2—3— 5	393,9	— 0,90	4—6— 7	293,5	— 2,74
2—3— 6	308,4	— 0,10	4—6— 8	181,6	1,72
2—3— 7	291,6	0,22	4—6— 9	200,1	0,98
2—3— 8	246,7	0,71	4—6—10	185,5	1,57
2—3— 9	232,6	0,86	4—7— 8	— 103,3	18,28
2—3—10	210,9	1,10	4—7— 9	154,6	4,61
2—4— 5	— 473,1	17,88	4—7—10	160,4	4,31
2—4— 6	24,9	7,97	4—8— 9	215,6	— 0,25
2—4— 7	131,2	5,86	4—8—10	186,9	1,42
2—4— 8	99,6	6,49	4—9—10	165,6	3,74
2—4— 9	141,7	5,65	5—6— 7	294,0	— 2,79
2—4—10	149,6	5,49	5—6— 8	147,5	4,92
2—5— 6	163,0	4,11	5—6— 9	185,4	2,93
2—5— 7	209,9	3,09	5—6—10	174,6	3,49
2—5— 8	156,8	4,24	5—7— 8	— 604,5	60,04
2—5— 9	176,6	3,81	5—7— 9	123,8	9,11

* Diese zwei von den anderen Werten zu sehr abweichenden c_0-Werte, sowie die entsprechenden m-Werte (mit ● bezeichnet) wurden zur Berechnung der Mittelwerte nicht herangezogen.

Tabelle 2 (Fortsetzung).

Versuchsreihen	$c_0 \cdot 10^4$	m	Versuchsreihen	$c_0 \cdot 10^4$	m
5—7—10	143,3	7,75	6—8— 9	226,1	— 2,41
5—8— 9	214,3	0,03	6—8—10	188,0	1,14
5—8—10	183,6	2,28	6—9—10	61,3	2,70
5—9—10	160,1	5,47	7—8— 9	280,0	— 13,67
6—7— 8	872,0	— 62,60	7—8—10	228,2	— 9,35
6—7— 9	— 16,0	29,50	7—9—10	170,0	2,38
6—7—10	90,3	18,43	8—9—10	104,0	23,00

Mittelwerte: $c_0 = 0{,}0170$; $m = 4{,}4$.

oberflächenaktives, auf die Fläche sehr wirksames Gift ist, so ist zu erwarten, daß auch die Saponinvergiftungsversuche die erwähnten Gesetzmäßigkeiten bestätigen werden.

Um die Frage über die Anwendbarkeit der Vergiftungsgleichung (6) zu entscheiden, müssen zuerst aus den Ergebnissen von je drei Versuchsreihen (Tabelle 1) die Werte der Konstanten c_0 und m mit Hilfe der Formeln (10) bzw. (11):

$$c_0 = \frac{c_1 c_3 (\tau_3 - \tau_1) - c_1 c_2 (\tau_2 - \tau_1) - c_2 c_3 (\tau_3 - \tau_2)}{c_1 (\tau_3 - \tau_2) - c_2 (\tau_3 - \tau_1) + c_3 (\tau_2 - \tau_1)} \tag{10}$$

$$m = \frac{\tau_1 \tau_2 (c_1 - c_2) + \tau_2 \tau_3 (c_2 - c_3) - \tau_1 \tau_3 (c_1 - c_3)}{c_1 (\tau_3 - \tau_2) - c_2 (\tau_3 - \tau_1) + c_3 (\tau_2 - \tau_1)} \tag{11}$$

berechnet werden (Tabelle 2). Die in dieser Weise gefundenen Mittelwerte von c_0 und m in die Vergiftungsgleichung (6) eingesetzt, ergeben für jede Versuchsreihe den entsprechenden K-Wert bzw. den K-Mittelwert (Tabelle 3). Sind die Mittelwerte von den Konstanten c_0, m und K bekannt, so können die Vergiftungszeiten für jede beliebige Saponinkonzentration mit Hilfe der Vergiftungsgleichung (12):

$$\tau = \frac{K}{c - c_0} - m \tag{12}$$

[eine andere Form der Vergiftungsgleichung (6)] berechnet werden. In dieser Weise haben wir die Vergiftungszeiten für alle bei den Versuchen

Tabelle 3.

Versuchsreihe	$c_0 = 0{,}0170$; $m = 4{,}4$	Versuchsreihe	$c_0 = 0{,}0170$; $m = 4{,}4$
	$K \cdot 10^4$		$K \cdot 10^4$
1	8421	6	7123
2	7351	7	7398
3	6829	8	6971
4	7539	9	7204
5	7186	10	7106

Mittelwert: $K = 0{,}7313$

verwendeten Saponinkonzentrationen ermittelt (Tabelle 4). Wie aus Tabelle 4 und Abb. 1 ersichtlich ist, stimmen die nach Formel (12) berechneten Vergiftungszeiten mit den experimentell gefundenen gut überein. Dies beweist, daß die Vergiftungsgleichung (6) sich auf

Tabelle 4.

Versuchsreihe	$c_0 = 0{,}0170$; $m = 4{,}4$; $K = 0{,}7313$		
	$c \cdot 10^4$	τ (gefunden)	τ [nach (12) berechnet]
1	1308	3	2,02
2	952	5	4,94
3	769	7	7,80
4	676	10,5	10,0
5	583	13	13,3
6	488	18	18,6
7	440	23	22,7
8	392	27	28,5
9	344	37	37,6
10	296	52	53,6

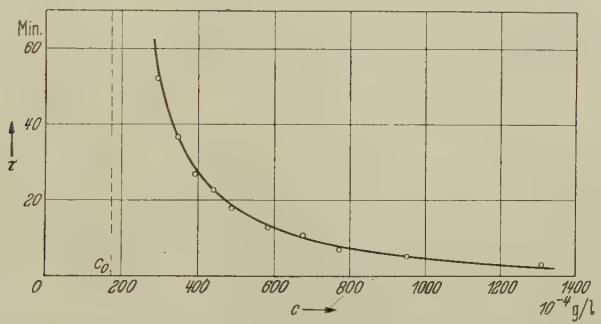


Abb. 1.

die Ergebnisse unserer Saponinvergiftungsversuche anwendet und daß die Saponinkonzentrationen im Gebiete liegen, wo die Bedingung (9) erfüllt ist. Es ist dabei zu bemerken, daß die Vergiftungsgleichung (6) für die „maximale ungiftige Volumphasekonzentration" c_0 praktisch denselben Wert ($c_0 = 0{,}0170$ g/l) ergab, wie die Extrapolationsrechnung, mit Hilfe der wir in der früheren Mitteilung zum c_0-Wert gelangten ($c_0 = 0{,}0171$ g/l).

Nachdem wir uns über die Anwendbarkeit der Vergiftungsgleichung (6) auf die Ergebnisse unserer Saponinversuche überzeugt haben, wollen wir prüfen, wie sich Vergiftungsgleichung (5) verhält. Das Problem läßt sich besonders einfach lösen, wenn man in Betracht zieht, daß einige in der Vergiftungsgleichung (5) vorhandene Konstanten: c_0 und k, aus den bisherigen Daten bereits bekannt sind[4], während die übrigen: α und β, mit

[4] Es handelt sich um die Konstanten c_0 und k jener Vergiftungsgleichung, nach welcher die Vergiftungssymptome auftreten würden, wenn die durch das tensioaktive Gift bedingte Verminderung der Oberflächenspannung keinen fördernden Einfluß auf die Giftpenetration durch lebende Membranen ausüben würde. Über die Ableitung der Werte dieser Konstanten aus Versuchsergebnissen haben wir in unserer III. Mitteilung[3] eingehend berichtet.

Hilfe der eben abgeleiteten Werte von m und K bequem ermittelt werden können. Es genügt dazu das System (13):

$$\left.\begin{aligned} m &= -k\beta, \quad (7) \\ K &= k\alpha + 2k\beta_0 \quad (8) \end{aligned}\right\} \tag{13}$$

in bezug auf α und β aufzulösen und in den Beziehungen (14) bzw. (15)

$$\beta = -\frac{m}{k} \tag{14}$$

$$\alpha = \frac{K - 2mc_0}{k} \tag{15}$$

die bekannten Konstanten: m, c_0, k und K durch ihre Werte zu ersetzen (d. h.: $m = 4{,}4$; $c_0 = 0{,}0170$; $k = 0{,}6768$ und $K = 0.7313$). Man erhält für α und β folgende Zahlen:

$$\alpha = 1{,}3015, \quad \beta = -6{,}5012.$$

Jetzt sind uns alle in der Vergiftungsgleichung (5) vorhandenen Konstanten bekannt, so daß wir zur Berechnung der Vergiftungszeit für jede beliebige Saponinkonzentration c an Hand der Formel (16):

$$\tau = \frac{k}{\frac{c}{\alpha + \beta c} - v_0} \tag{16}$$

[eine andere Form der Vergiftungsgleichung (5)], wo v_0 das konstante Glied (17):

$$v_0 = \frac{c_0}{\alpha + \beta c_0} \tag{17}$$

darstellt, schreiten können. Wie aus Tabelle 5 ersichtlich ist, stimmen die berechneten τ-Werte mit den experimentell gefundenen für alle Saponinkonzentrationen befriedigend überein. Daraus folgt, daß die Vergiftungsgleichung (5) mit den Ergebnissen unserer Saponinvergiftungsversuche im Einklang steht.

Tabelle 5.

Versuchsreihe	$\alpha = 1{,}3015$; $\beta = -6{,}5012$; $v_0 = 0{,}0143$: $k = 0{,}6768$		
	$c \cdot 10^4$	τ (gefunden)	τ [nach (16) berechnet]
1	1308	3	2,46
2	952	5	5,40
3	769	7	8,29
4	676	10,5	10,6
5	583	13	13,8
6	488	18	19,2
7	440	23	23,3
8	392	27	29,2
9	344	37	38,4
10	296	52	54,6

Die eben ermittelten Werte der Konstanten α und β gestatten nun noch weitere Aufschlüsse über die Anwendbarkeit unserer Vergiftungsgleichung (5) zu erhalten. Zu diesem Zweck setzen wir zuerst in die Gleichung der Adsorptionsisotherme von I. Langmuir (18):

$$r = \frac{c}{\alpha + \beta c} \tag{18}$$

die Werte von α und β ein und berechnen die Grenzphasekonzentration r, welche jeder bei den Versuchen verwendeten Volumphasekonzentration c des Saponins entspricht (Tabelle 6).

Tabelle 6.

Versuchsreihe	$c \cdot 10^4$	$\alpha = 1{,}3015$; $\beta = -6{,}5012$	$c_0 = 0{,}0171$; $k = 0{,}6768$	$\Delta \cdot 10^4$
		$r \cdot 10^4$	$c' \cdot 10^4$	
1	1308	(2900)	2427	—
2	952	1395	1525	(— 130)
3	769	959	1138	(— 179)
4	676	784	816	— 32
5	583	632	692	— 60
6	488	496	547	— 51
7	440	433	465	— 32
8	392	375	422	— 47
9	344	319	354	— 35
10	296	267	301	— 34
			Mittelwert:	$\Delta_m = -0{,}0042$

Dann ermitteln wir an Hand der Ergebnisse der Vergiftungsversuche (Tabelle 1) für jede Versuchsreihe die entsprechende c'-Konzentration mit Hilfe der Vergiftungsgleichung (19):

$$c' = \frac{k}{\tau} + c_0 \tag{19}$$

[eine andere Form der Vergiftungsgleichung: $(c' - c_0)\,\tau = k$]. Man sieht (Tabelle 6), daß die erhaltenen r-Werte stets kleiner sind als die entsprechenden c'-Werte und daß die Differenz Δ (20):

$$\Delta = r - c' \tag{20}$$

bei den letzten sieben Versuchsreihen zwischen: — 0,0032 und — 0,0060 g/l schwankt, so daß ihr Mittelwert gleich: $\Delta_m = -0{,}0042$ g/l ist[5].

Dieser Befund ist für uns deshalb von Bedeutung, weil er Aufschluß über den direkten Weg zur Ermittlung von α und β gibt. In der vorigen Mitteilung[1] haben wir nämlich gezeigt, daß die Konstanten in den Gleichungen der Adsorptionsisotherme aus den Ergebnissen der Vergiftungsversuche auf Grund der Beziehung (21):

$$f(c) = c' + \Delta \tag{21}$$

berechnet werden können und daß diese Beziehung (21) die Form (22):

$$f(c) = c' \tag{22}$$

annimmt, wenn Δ neben c' vernachlässigt werden kann. Im Falle unserer mit Cetylchinoleiniumchlorid ausgeführten Versuche haben wir diese vereinfachte Beziehung (22) zur Berechnung der „Adsorptionskonstanten"

[5] Die Tatsache, daß die Berechnung für Δ_m einen negativen Wert ergab, scheint auch ein gewisses Interesse darzustellen. Natürlich kann es sich hier nicht um eine, bei den schwächsten Saponinkonzentrationen vorstellbare, sozusagen „negative" Adsorption handeln. Wir haben es hier eher mit Adsorptionsvorgängen zu tun, welche sich an der „inneren" Seite der mit giftiger Lösung in Berührung kommenden Zellenmembran äußern. Diese Frage erfordert eine eingehendere Besprechung, welche wir für eine andere Mitteilung vorbehalten.

mit Erfolg verwendet. Bei den Saponinversuchen können wir es aber nicht tun, da hier Δ_m im Vergleich zu den c'-Konzentrationen (Tabelle 6) einen ziemlich hohen Wert hat ($|\Delta_m| = 0{,}0042$ g/l) und deshalb neben c' nicht zu vernachlässigen ist. Man müßte also für diesen Fall die Beziehung (21) verwenden. Hätten wir uns zur direkten Ermittlung der genannten Konstanten (α und β) aus den Ergebnissen der Saponinversuche genau demselben Verfahren wie bei Cetylchinoleiniumchlorid bedient, dann würden wir weder für α noch für β die richtigen Werte erhalten haben.

Nun schreiten wir zur Prüfung der Anwendbarkeit der Vergiftungsgleichung (4) auf die mit Saponin ausgeführten Versuche. Aus Gründen, auf welche wir bereits hingewiesen haben, bedienen wir uns der Beziehung (21). Unter Verwendung der H. Freundlichschen Adsorptionsisotherme (23):

$$r = a c^b \tag{23}$$

nimmt diese Beziehung (21) die Form (24):

$$a c^b = c' + \Delta_m \tag{24}$$

an. Hier sind die Werte von c, c' und Δ_m aus den früheren Ergebnissen bekannt (vgl. Tabelle 7): es ist also möglich, auch die Werte der Konstanten a und b zu ermitteln. Zu diesem Zweck löst man zunächst das System (25):

$$\left.\begin{aligned} a\, c_1^b &= c_1' + \Delta_m \\ a\, c_2^b &= c_2' + \Delta_m \end{aligned}\right\} \tag{25}$$

auf, um für a und b die Beziehungen (26) bzw. (27):

$$\log a = \frac{\log c_1 \cdot \log (c_2' + \Delta_m) - \log c_2 \cdot \log (c_1' + \Delta_m)}{\log c_1 - \log c_2} \tag{26}$$

$$b = \frac{\log (c_1' + \Delta_m) - \log (c_2' + \Delta_m)}{\log c_1 - \log c_2} \tag{27}$$

Tabelle 7.

Versuchsreihe	$c \cdot 10^4$	$c' \cdot 10^4$ (vgl. Tabelle 6)	$\Delta_m = -0{,}0042$ $(c' + \Delta_m) \cdot 10^4$
1	1308	2427	2385
2	952	1525	1483
3	769	1138	1096
4	676	816	774
5	583	692	650
6	488	547	505
7	440	465	423
8	392	422	380
9	344	354	312
10	296	301	259

zu erhalten.

Dann berechnet man die Werte von a und b an Hand der in Tabelle 7 gegebenen Zahlen (Tabelle 8). Es genügt nun, die so ermittelten a- und b-Werte in die Vergiftungsgleichung (28):

$$\tau = \frac{k}{a\, c^b - w_0} \tag{28}$$

Tabelle 8[6].

Versuchsreihen	log a	b	Versuchsreihen	log a	b
1— 2	$\bar{2}$,7162	1,496	3—10	$\bar{2}$,6789	1,511
1— 3	$\bar{2}$,8154	1,464	4— 5	1,5526	1,179
1— 4	$\bar{2}$,0621	1,706	4— 6	$\bar{1}$,1833	1,309
1— 5	$\bar{2}$,3629	1,609	4— 7	$\bar{2}$,9070	1,407
1— 6	$\bar{2}$,4704	1,574	4— 8	$\bar{1}$,1954	1,305
1— 7	$\bar{2}$,4289	1,588	4— 9	$\bar{1}$,0835	1,345
1— 8	$\bar{2}$,6267	1,524	4—10	$\bar{1}$,1380	1,325
1— 9	$\bar{2}$,6311	1,523	5— 6	$\bar{2}$,8916	1,418
1—10	$\bar{2}$,7207	1,494	5— 7	$\bar{2}$,5897	1,527
2— 3	$\bar{2}$,9522	1,416	5— 8	$\bar{1}$,0734	1,352
2— 4	$\bar{3}$,5106	1,900	5— 9	$\bar{2}$,9656	1,391
2— 5	2,1597	1,682	5—10	$\bar{1}$,0589	1,357
2— 6	$\bar{2}$,3696	1,612	6— 7	$\bar{2}$,0929	1,715
2— 7	$\bar{2}$,3286	1,626	6— 8	$\bar{1}$,2120	1,299
2— 8	$\bar{2}$,6000	1,535	6— 9	$\bar{1}$,0001	1,377
2— 9	$\bar{2}$,6095	1,531	6—10	$\bar{1}$,1122	1,336
2—10	$\bar{2}$,7217	1,494	7— 8	0,1777*	0,926*
3— 4	$\bar{5}$,2392*	2,703*	7— 9	$\bar{1}$,3597	1,236
3— 5	$\bar{3}$,5922	1,888	7—10	$\bar{1}$,3564	1,237
3— 6	$\bar{2}$,1228	1,704	8— 9	$\bar{2}$,6647	1,510
3— 7	$\bar{2}$,1169	1,706	8—10	$\bar{1}$,0406	1,365
3— 8	$\bar{2}$,5028	1,572	9—10	$\bar{1}$,3516	1,239
3— 9	$\bar{2}$,5321	1,562			

Mittelwerte: $\log a = \bar{2}$,7084; $b = 1$,487.

* Diese vier, von den anderen Werten zu sehr abweichenden Zahlen wurden zur Berechnung der Mittelwerte nicht herangezogen.

[eine andere Form der Vergiftungsgleichung (4)] einzuführen, um die Vergiftungszeit für jede beliebige Saponinkonzentration c zu erhalten[6]. In Formel (28) stellt w_0 das konstante Glied (29):

$$w_0 = a\, c_0^b \tag{29}$$

dar, während c_0 und k die in der III. Mitteilung abgeleiteten Konstanten bedeuten ($c_0 = 0{,}0171$; $k = 0{,}6768$). Es ist aus Tabelle 9 ersichtlich, daß die berechneten Vergiftungszeiten mit den experimentell gefundenen

[6] Um die Berechnung zu vereinfachen, wurden die c- und $(c' + \Delta_m)$-Konzentrationen (Tabelle 7) bei log a-Ermittlung [Formel (26)] mit 10^4 multipliziert. Die in Tabelle 8 vorhandenen log a-Werte sind also auf die so genommenen Zahlen bezogen. Dies ist bei der Berechnung der τ-Werte [Formel (28)] zu beachten. — In ähnlicher Weise verfuhren wir auch in unserer vorigen Mitteilung [Tabelle 10, Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 646 (1939)] und erwähnen es hier deshalb, weil wir versäumt haben, dort darauf hinzuweisen.

übereinstimmen. Die Vergiftungsgleichung (4) läßt sich also auf die Ergebnisse unserer mit Saponin ausgeführten Vergiftungsversuche anwenden.

Tabelle 9.

Versuchsreihe	$c \cdot 10^4$	τ (gefunden)	τ [nach (28) berechnet]
1	1308	3	3,23
2	952	5	5,35
3	769	7	7,59
4	676	10,5	9,43
5	583	13	12,2
6	488	18	16,9
7	440	23	20,6
8	392	27	26,0
9	344	37	34,7
10	296	52	50,1

$w_0 = 0{,}0107.$

Zusammenfassung.

In vorliegender Arbeit konnten wir die Anwendbarkeit unserer in der vorigen Mitteilung für tensioaktive Gifte und antekritische Vergiftungssymptome abgeleiteten Vergiftungsgleichungen auf die Ergebnisse unserer mit Saponin an „Atherina hepsetus L." ausgeführten Vergiftungsversuche (vgl. III. Mitteilung) bestätigen.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Leipzig.
(Direktion: O. Gros.)

Ascorbinsäure und Fieber.

Von

Hans T. A. Haas.

(Eingegangen am 6. März 1939.)

Die Beobachtungen verschiedener Autoren, die am Menschen bei fieberhaften Erkrankungen durch Zufuhr von Ascorbinsäure (Asc.) eine Senkung der Temperatur erzielten, gaben die Veranlassung zur Durchführung der nachfolgenden Untersuchungen, bei denen der Einfluß der Asc. gegenüber künstlich erzeugten Fieberzuständen im Experiment am Tier geprüft wurde. Die bisher vorliegenden Angaben der Literatur beziehen sich sämtlich auf klinische Berichte, bei denen neben der Besserung des gesamten jeweiligen Krankheitsbildes gemeinsam als auffallendes Symptom eine Minderung des Fiebers zumeist in Form einer kritischen Entfieberung beschrieben wird. So erzielten Hochwald[1], Gander und Niederberger[2], Bohnholtzer[3] sowie Günzel und Kroehnert[4] bei Pneumonien in einer Reihe von Fällen einen raschen Abfall der Temperatur nach Zufuhr größerer Asc.-Mengen, insbesondere wenn diese in den ersten Tagen der Erkrankung injiziert wurden. Über ähnliche Erfolge berichtet weiterhin Vogl[5] bei der Anwendung weit geringerer Asc.-Gaben. Ferner konnte Schnetz[6] bei Grippe durch Asc. einen Rückgang des Fiebers erreichen. Daneben sah Haselbach[7] den gleichen Effekt bei fiebernden Tuberkulösen eintreten und Alken[8] beschreibt einen schnellen Abfall der Temperatur nach Injektion von Asc. bei bestimmten Formen von Pyelonephritis.

Zweck der vorliegenden Untersuchungen ist es, im Experiment am Tier diese Befunde nachzuprüfen und festzustellen, inwieweit der Asc. ein Einfluß auf fieberhafte Zustände zuzusprechen ist und an welche Größenordnungen diese Wirkung gebunden ist. Darüber hinaus hofften wir Anhaltspunkte zu gewinnen, die zu einer genaueren Abgrenzung und Analyse der Wirksamkeit der Asc. hinsichtlich ihrer Gegenwirkung auf fieberhafte Zustände führen können. Diese Möglichkeit schien in experimentellen Untersuchungen gegeben, weil sich bei diesen das Testobjekt,

---

[1] Hochwald, A.: Klin. Wschr. **1936**, S. 894; Dtsch. med. Wschr. **1937**, S. 182. — [2] Gander, J., u. W. Niederberger: Münch. med. Wschr. **1936**. S. 2074. — [3] Bohnholtzer, E.: Dtsch. med. Wschr. **1937**, S. 1001. — [4] Günzel, W., u G. Kroehnert: Fschr. Ther. **1937**, S. 460. — [5] Vogl, A.: Münch. med. Wschr. **1937**, S. 1569. — [6] Schnetz, H.: Klin. Wschr. **1938**, S. 267. — [7] Haselbach, F.: Dtsch. med. Wschr. **1936**, S. 924. — [8] Alken, C. E.: Ebenda **1938**, S. 475.

an dem die Wirkung der Asc. gemessen werden soll, nämlich das Fieber, variieren läßt. Pharmakologisch wirksame Substanzen können bekanntlich auf Grund verschiedenartiger Angriffspunkte und infolge von Unterschieden im Wirkungsmechanismus Erhöhung der Körpertemperatur in verschiedener Form herbeiführen. Zur Prüfung zur Wirksamkeit der Asc. als Antidot bei Hyperthermien wurden daher mehrere Versuchsreihen durchgeführt, bei denen der Einfluß der Asc. gegenüber einer Reihe von Pharmaka untersucht wurde, denen gemeinsam eine fiebererzeugende Wirkung zukommt, die sich im übrigen aber im Wirkungscharakter zum größten Teil unterscheiden.

Eigene Versuche.

Die Versuche wurden an weißen Ratten, Meerschweinchen und Kaninchen durchgeführt. Die Verwendung mehrerer Tierarten erfolgt zur Vermeidung etwaiger Fehlerquellen, die bei der Benutzung einer einzigen Tierspezies infolge einer besonderen Ansprechbarkeit der Tiere oder auf Grund eines besonders gelagerten Asc.-Bedarfs eventuell entstehen könnten.

Zur Fiebererzeugung dienten 1- 2- 4- α-Dinitrophenol, Thyroxin, Pyrifer, β-Tetrahydronaphthylamin, β-Phenylisopropylamin und 1-Phenyl, 2-Methylaminopropan.

In Vorversuchen wurde jeweils an unbehandelten Tieren die notwendige Dosierung und das Ausmaß der Temperatursteigerung festgelegt. Die Temperaturmessungen wurden stets in halbstündigen Abständen durchgeführt. Es erwies sich bei diesen Untersuchungen, daß die gewählten Substanzen nicht einheitlich bei den benutzten Tierarten auf die Körpertemperatur einwirken und teilweise beträchtliche Unterschiede in der Reaktion der einzelnen Tierarten bestehen. Dadurch wurden vielfach die Versuchsmöglichkeiten weitgehend eingeschränkt, da die Austestung im antagonistischen Versuch nur durchführbar ist, falls am unvorbehandelten Tier Fieberzustände eindeutiger Art auftreten.

Weiter wurde im Rahmen der Vorversuche die Wirkung der Asc. auf die Körpertemperatur an Ratten bei der Anwendung höherer Dosierungen bestimmt. Bei diesen Versuchen zeigte es sich, daß die Asc. selbst keinen wesentlichen Einfluß auf die Temperatur auszuüben vermag, und daß ihr toxische Eigenschaften selbst in hohen Dosierungen fehlen. Die Asc. wurde wie auch bei allen folgenden Versuchen subcutan injiziert, und zwar in Form einer im Handel befindlichen Lösung (Cantan stark).

Tabelle 1. Versuche mit Ascorbinsäure an Ratten.

Dosis mg/kg	Temperatur	Zahl	Mortalität
250	$-0{,}4 \pm 0{,}14$	7	0
500	$-0{,}1 \pm 0{,}2$	8	0
1000	$-0{,}1 \pm 0{,}24$	8	0
1500	$-0{,}3 \pm 0{,}19$	8	0

Die ermittelten Temperatursteigerungen werden in allen Versuchen einer statistischen Auswertung unterzogen, und zwar nach den bei R. A. Fischer[9] angegebenen Methoden. In den Tabellen sind daher neben den Angaben der Mittelwerte die mittleren Fehlerbreiten eingefügt, die unter Berücksichtigung der Streuung der Einzelversuche errechnet wurden. Bei den antagonistischen Versuchen enthalten die Tabellen außerdem noch Angaben, die die Unterschiede in der Höhe des Temperaturanstiegs bei alleiniger Benutzung von Fiebermitteln und bei gleichzeitiger Darreichung von Fiebermittel und Asc. aufzeigen. Für die Differenz, die sich beim Vergleich zweier Versuchsreihen ergeben, wird wiederum die Streuung der jeweiligen Einzelbefunde durch eine Berechnung der mittleren Fehlerbreite berücksichtigt. Die Abweichungen im Verhalten der Körpertemperatur in den zum Vergleich stehenden Versuchen sind dabei nur dann als positiv zu bezeichnen, falls die Spanne der Differenz den Wert der mittleren Fehlerbreite um ein Dreifaches übertrifft. Die Wahl der dreifachen mittleren Fehlerbreite als Maß für die Sicherstellung der Versuchsergebnisse ergibt sich aus der Anzahl der benutzten Tiere. Selbst in den Versuchen, bei denen kleinere Mengen von Tieren benutzt wurden, bietet die Einsetzung dieses Faktors als Maßstab für die Beurteilung der Versuchsergebnisse eine genügende Sicherheit, um die erzielten Resultate als einwandfrei bezeichnen zu können.

1- 2- 4- α-Dinitrophenol.

Die Zufuhr des Dinitrophenols (DNP.) erfolgte stets subcutan in mg/kg in 2%iger Lösung. Zur Lösung wird ein geringer Überschuß von NaOH verwandt unter nachfolgendem Zusatz der dem Laugenüberschuß entsprechenden Menge von HCl. In der Tabelle 2 sind die Angaben über die erzielten Temperaturänderungen und über die Höhe der Mortalität bei einer verschiedenen Dosierung des DNP. enthalten. Der Anstieg der Temperatur trat zumeist nach Ablauf 1 Stunde ein; er erreichte nach 2—3 Stunden durchschnittlich sein Maximum und dauerte 4—6 Stunden, je nach der angewandten Dosierung. Nach Magne, Mayer und Pantefol[10] sowie Tainter und Cutting[11] zeigen sich bei mehrfacher Zufuhr des DNP. an ein und demselben Tier trotz Einhaltung der gleichen Dosis beträchtliche Differenzen im Fiebergrad, die nach der Ansicht Magnes eine Gewöhnung nicht ausschließen. Mit Rücksicht auf diese Angaben wurde daher bei den Versuchen mit DNP. von einer zweimaligen Benutzung des gleichen Tieres Abstand genommen.

Hinsichtlich des hyperthermischen Effekts weichen die eigenen Versuche an Ratten teilweise etwas von den Befunden Cuttings und

[9] Fischer, R. A.: Statist. Methods f. Res. Workers. Edinburgh, Oliver and Boyd, 1925. — [10] Magne, H., A. Mayer u. L. Pantefol: Ann. Physiol. (Fr.) **7**, 269 (1931). — [11] Cutting, W. C., u. M. L. Tainter: J. Pharmacol. (Am.) **48**, 410 (1933); **49**, 187 (1933).

Tabelle 2. Versuche mit Dinitrophenol.

Dosis mg/kg	Ratten			Meerschweinchen			Kaninchen		
	Temperatur	Zahl	Mortalität	Temperatur	Zahl	Mortalität	Temperatur	Zahl	Mortalität
10	+ 0,9 ± 0,1	4	0						
20	+ 1,3 ± 0,23	4	0	+ 1,2 ± 0,25	6	0	+ 0,7 ± 0,19	3	0
25	+ 2,3 ± 0,18	8	2	+ 1,8 ± 0,34	7	1	+ 0,8 ± 0,28	2	0
30	+ 2,1 ± 0,25	8	2	+ 2,1 ± 0,29	3	1	+ 1,7 ± 0,19	6	0
40	+ 1,9 ± 0,11	6	2	+ 3,0 ± 0,22	5	4			
50	+ 1,7 ± 0,17	12	11	+ 4,3 ± 0,34	7	6			

Tainters ab, die mit 10 mg/kg durchschnittlich einen Temperaturanstieg von 1,6°, mit 20 mg von 2,7°, mit 25 mg von 2,6°, mit 30 mg von 3,0° und mit 50 mg von 3,4° erzielten. Die Mortalität betrug bei Ratten nach dem Ergebnis dieser Autoren bei subcutaner Injektion des DNP. in Dosen von 25 mg 50%, von 35 mg 86% und von 50 mg/kg 100%. Nach Tscherkess und Mitarbeitern[12] wirken sich bei subcutaner Injektion 45 mg DNP. bei Ratten absolut tödlich aus. Unterhalb einer Dosierung von 35 mg subcutan trat nach Angaben dieser Untersucher bei Ratten kein Todesfall ein. In Versuchen an Kaninchen beobachteten Cutting und Tainter bereits bei der Dosierung von 30 mg/kg in 50% der Fälle letalen Ausgang; bei 20 mg/kg starb noch 1 von 5 Tieren.

Wirkung der Ascorbinsäure auf die durch Dinitrophenol verursachte Hyperthermie.

Die antagonistischen Versuche wurden ebenfalls an Ratten, Meerschweinchen und Kaninchen durchgeführt. Die Asc. wurde bei allen antagonistischen Versuchen unmittelbar vor der Injektion des DNP. subcutan verabreicht. Die DNP.-Dosis blieb in jeder der Versuchsreihen die gleiche, während die Größe der Asc.-Gaben wechselte.

Die Berechtigung für eine gleichzeitige Verabreichung der Asc. und der untersuchten Fiebermittel in den antagonistischen Versuchen schien uns gegeben auf Grund der Versuchsergebnisse Reisers[13] und Schusters[14]. Nach den Angaben Reisers setzt bei einmaliger subcutaner Injektion größerer Asc.-Gaben unmittelbar nach der Applikation eine erhöhte Ausscheidung der Asc. ein, wobei ein gewisser Prozentsatz der zugeführten Asc.-Menge in den Harn übergeht. Diese Ausfuhr beschränkt sich in der Hauptsache auf die ersten Stunden nach der Darreichung. Es ist daher wohl anzunehmen, daß die Asc. schnell in die Blutbahn resorbiert wird und von dort aus ebenso schnell zu einem gewissen Anteil wieder ausgeschieden wird. Schuster konnte nach einer einmaligen parenteralen Zufuhr feststellen, daß im Blut 5 Stunden nach der Injektion der Asc.-

[12] Tscherkess, A. I., V. F. Melnikowa u. S. M. Dubaschinskaja: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **179**, 1 (1935). — [13] Reiser, M.: Ebenda **190**, 384 (1938). — [14] Schuster, H. F.: Ebenda **190**, 393 (1938).

Spiegel um das 10—15fache erhöht ist gegenüber den vor Beginn der Versuche gefundenen Asc.-Werten. Hinsichtlich der Ausscheidung fand er ebenfalls, daß diese zum allergrößten Teil in den ersten 5 Stunden nach der Injektion stattfindet. Er folgert daher, daß der höchste Asc.-Wert im Blute früher als 5 Stunden nach der Injektion erreicht wird, da sonst die Asc.-Ausscheidung in den späteren Stunden viel größer sein müßte, als sie gefunden wurde. Damit ergibt sich aber für die eigenen Versuche, daß trotz gleichzeitiger Darreichung der Fiebermittel und der Asc. gerade zu dem Zeitpunkt des Maximums des Temperaturanstiegs, das sich bei allen untersuchten fiebererzeugenden Substanzen durchschnittlich 2—4 Stunden nach der Injektion einstellte, mit einer wesentlichen Erhöhung der Asc.-Werte im Organismus zu rechnen ist. Es dürfte daher die benutzte Versuchsanordnung zur Durchführung antagonistischer Versuche geeignet sein.

Tabelle 3. Ascorbinsäure und Dinitrophenol.

	Dosis mg/kg		Zahl	Mortalität	Temperatur	Differenz
	Asc.	DNP				
Ratten	—	25	8	2	+ 2,3 ± 0,18	
	100	25	9	0	+ 1,4 ± 0,32	− 0,9 ± 0,39
	250	25	9	0	+ 0,9 ± 0,12	− 1,4 ± 0,2
	500	25	8	0	+ 0,9 ± 0,28	1,4 ± 0,32
	1000	25	8	0	+ 0,8 ± 0,3	− 1,5 ± 0,35
	1500	25	8	0	− 0,5 ± 0,44	− 2,8 ± 0,47
Meerschweinchen	—	25	7	1	+ 1,8 ± 0,34	
	50	25	4	1	+ 1,3 ± 0,1	− 0,5 ± 0,47
	100	25	4	1	+ 1,3 ± 0,42	− 0,5 ± 0,55
	250	25	4	1	+ 2,1 ± 0,4	+ 0,3 ± 0,55
	500	25	4	0	+ 1,2 ± 0,26	− 0,6 ± 0,49
	1000	25	4	0	+ 0,2 ± 0,3	− 1,6 ± 0,51
Kaninchen	—	30	6	0	+ 1,7 ± 0,19	
	250	30	6	0	+ 1,0 ± 0,17	− 0,7 ± 0,3
	500	30	6	0	+ 0,5 ± 0,26	− 1,2 ± 0,32

Bei diesen Untersuchungen zeigte sich, daß der Asc. in höherer Dosierung antagonistische Wirkungen auf die durch DNP. erzeugte Hyperthermie zukommen. Bei statistischer Auswertung der Versuche ergibt sich, daß der antagonistische Einfluß gegenüber DNP. bei Ratten durch eine Asc.-Vorbehandlung in Dosen ab 250 mg/kg zu erreichen ist. In höheren Dosierungen tritt sogar an die Stelle des Temperaturanstiegs ein Abfall der Körpertemperatur. In den Meerschweinchenversuchen ist die antagonistische Wirkung der Asc. an weit höhere Dosen gebunden; erst mit Gaben von 1000 mg/kg läßt sich mit Sicherheit das DNP.-Fieber unterdrücken. Bei der Anwendung kleinerer Asc.-Dosen fallen die erzielten Resultate dagegen in den Bereich jener Befunde, die bei Tieren unter alleiniger Behandlung mit DNP. erzielt wurden. Bei Kaninchen setzt eine eindeutige antagonistische Wirkung der Asc. gegenüber DNP. bei Dosen

von 500 mg/kg ein. Trotz dieser Unterschiede bleibt die Tatsache bestehen, daß die Asc. bei allen benutzten Tierarten imstande ist, einen Einfluß auf das DNP.-Fieber auszuüben. Die Differenzen in der Stärke der antagonistischen Wirkung bei den verschiedenen Tierspezies fügen sich recht gut in unsere Kenntnisse über die Notwendigkeit der Asc. für die Aufrechterhaltung des normalen Gesundheitszustandes bei den verschiedenen Tierarten ein. Danach ist das Meerschweinchen allein unbedingt auf die Zufuhr von Asc. mit der Nahrung angewiesen, während die anderen Tierarten zum größten Teil den Skorbut verhütenden Stoff zu synthetisieren vermögen.

In Hinsicht auf die Beeinflussung der Mortalität des DNP. durch Asc. lassen die in der Tabelle angeführten Resultate keine einwandfreien Schlußfolgerungen zu. In Versuchen an Ratten, bei denen DNP. in einer Dosierung von 50 mg/kg verwandt wurde, konnte die Mortalität durch Asc. selbst bei der Anwendung von 1000 und 1500 mg/kg nicht beeinflußt werden. Es starben bei gleichzeitiger Darreichung von 1000 bzw. 1500 mg/kg Asc. und 50 mg/kg DNP. je 8 von 8 Tieren. Ohne Vorbehandlung mit Asc. kamen unter der alleinigen Einwirkung gleichgroßer DNP.-Gaben 11 von 12 Tieren ad exitum.

Bei der Durchsicht der Literatur fand sich, daß die fiebererzeugende Wirkung des DNP. auch durch andere Pharmaca verhindert werden kann. So änderte sich bei den Untersuchungen Gautrelets und Mitarbeitern[15] die Ausgangstemperatur bei Meerschweinchen nur unwesentlich, wenn DNP. gleichzeitig mit einer nicht tödlich wirkenden Viperngiftgabe verabreicht wurde. Ferner beobachteten Leulier und Béruard[16] an Tauben, daß bei gleichzeitiger Zufuhr von Phenylsemicarbamit (Cyrogenin) und DNP. die rektale Temperatur nicht so stark anstieg als bei alleiniger Behandlung der Tauben mit DNP. Die erzielten Temperaturunterschiede sind allerdings relativ unbeträchtlich. DNP. bewirkte nach 3—4 Stunden eine Temperaturerhöhung auf 44° im Mittel. Nach Cyrogenin und DNP. reagierten die Tauben mit einer Temperatur von 43° nach Ablauf des gleichen Zeitraumes. Eine Herabsetzung bzw. Aufhebung des DNP.-Fiebers konnten ferner Jenney, Ari und Baranyai[17] beobachten, wenn sie den Flavonolfarbstoff Quercitrin mit DNP. zusammen Ratten intraperitoneal injizierten. Alle übrigen Versuche, den durch DNP. erzielten Temperaturanstieg zu beeinflussen, blieben im wesentlichen erfolglos. Ein Teil dieser Untersuchungen ist bereits in der Arbeit Jeneys zusammengestellt, so daß auf diese Arbeit hingewiesen werden kann. Daneben sind noch die Befunde Cuttings und Tainters[11] anzuführen, die weder mit Arterenol, Injektionen von Glucose-Insulin, Na-Jodacetat, Chinin, Salicylsäure und Methylenblau, noch mit Morphin und Veronal die Toxizität und hyperthermische Wirkung

[15] Gautrelet, J., N. Halpern u. E. Corteggianni: C. r. Soc. Biol. **121**, 319 (1936). — [16] Leulier, A., u. G. Béruard: Ebenda **120**, 650 (1935). — [17] v. Jenney, A., L. Ari u. P. Baranyai: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 407 (1939).

des DNP. zu ändern vermochten. Eine intraperitoneale Kochsalzgabe in größerer Menge reduzierte einzig die Hyperthermie um 50% infolge einer erleichterten Wärmeabgabe, während die Lebensdauer und Mortalität unverändert blieben. Durch Kühlung der Ratten mit Wasser war ein Rückgang der Sterblichkeit von 78 auf 60% zu erzielen. Nach Tscherkess[12] sind selbst kühle Bäder trotz Senkung der Temperatur nicht imstande, die Tiere am Leben zu erhalten. Ebensowenig üben nach Beobachtungen dieser Autoren eine Hemmung des ZNS. durch Narkotica bzw. eine Einwirkung von Antipyretica einen Einfluß auf die Entwicklung der Intoxikation aus. Auch der Verlauf der hyperthermischen Kurve wird durch eine derartige Vorbehandlung nicht antagonistisch beeinflußt.

Thyroxin.

Versuche, durch intravenöse Injektion von Thyroxin Temperatursteigerungen zu erzielen, blieben erfolglos. Im Gegensatz zu den Beobachtungen Höglers und Zells[18] sahen wir bei Kaninchen in 6 Versuchen nach 3 mg/kg Thyroxin i. v. keine Erhöhung der Temperatur eintreten.

Weitere Versuche wurden an Ratten vorgenommen, und zwar wurde zu diesen Untersuchungen die von Abderhalden und Wertheimer[19] angegebene Versuchsanordnung benutzt. Hierbei werden Ratten unter Einhaltung einer gleichmäßigen Ernährungsweise an mehreren Tagen mit Thyroxin subcutan behandelt und nach Abschluß dieser Vorbehandlung im Brutschrank einer Temperatur von 37—40° für mehrere Stunden ausgesetzt. In den eigenen Versuchen betrug die tägliche Thyroxindosis 10 mg/kg; diese Menge wurde 3 Tage lang zugeführt. Am 4. Tage kamen die Tiere 2 Stunden lang in den Brutschrank bei einer Temperatur von 37°. Unter dieser Behandlung trat eine Erhöhung der Temperatur um durchschnittlich $1{,}9 \pm 0{,}12^0$ ein. Das Maximum wurde jeweils kurz vor dem Ende des Versuchs erreicht. Nach Herausnahme der Tiere aus dem Brutschrank fiel die Temperatur innerhalb einer halben bis 1 Stunde wieder zur Norm ab, teilweise traten sogar für einige Stunden subnormale Temperaturen auf. Eine Dauerschädigung bzw. Exitus der Tiere stellte sich bei diesen Versuchen nicht ein. Damit stehen die eigenen Befunde nach jeder Richtung in Übereinstimmung zu den Ergebnissen Abderhaldens und Wertheimers.

Die Vorbehandlung mit Asc. bestand bei den Thyroxinversuchen in einer Zufuhr größerer Asc.-Gaben an 3 aufeinander folgenden Tagen zugleich mit der Injektion des Thyroxins. Außerdem wurden noch jeweils gleichgroße Asc.-Mengen am 4. Tage $^3/_4$—1 Stunde vor dem Einsetzen der Tiere in den Brutschrank subcutan injiziert. Der Abstand von $^3/_4$—1 Stunde zwischen der Zufuhr der Asc. und der Brutschrankbehandlung

[18] Högler, F., u. F. Zell: Z. exper. Med. **102**, 23 (1937). — [19] Abderhalden, E., u. E. Wertheimer: Pflüg. Arch. **219**, 588 (1928).

Tabelle 4. Thyroxin.

	Dosis mg/kg		Zahl	Temperatur	Differenz
	Asc.	Thyroxin			
Ratten	—	10	6	+ 1,9 ± 0,12	
	250	10	3	+ 3,0 ± 0,52	+ 1,1 ± 0,39
	500	10	6	+ 2,6 ± 0,17	+ 0,7 ± 0,22
	1000	10	6	+ 1,4 ± 0,09	− 0,5 ± 0,16
	1500	10	6	+ 1,1 ± 0,1	− 0,8 ± 0,16

wurde gewählt, weil bei dieser Versuchsanordnung der Eintritt des Fiebers früher erfolgt als bei den übrigen Untersuchungen. Bei derart durchgeführten Versuchen erzielte die Asc. in Dosen von 1000 und 1500 mg/kg eine deutliche Herabsetzung der Temperatur. Im Gegenteil hierzu trat bei der Injektion kleinerer Asc.-Dosen ein Temperaturanstieg verstärkten Grades ein, dessen Ausmaß selbst bei statistischer Auswertung eindeutig über die Temperaturwerte bei Tieren ohne Asc.-Vorbehandlung hinausragt. Kreitmaier[20] konnte bereits entsprechend bei Rattenversuchen feststellen, daß durch kleine Asc.-Dosen die gaswechselsteigernde Eigenschaft der Schilddrüse verstärkt wird, während durch große Gaben diese Schilddrüsenwirkung vermindern.

In Parallelversuchen, bei denen prinzipiell die gleiche Vorbehandlung im Tiere mit täglichen Asc.-Gaben von 1500 mg/kg erfolgte, bei denen jedoch am 4. Tage vor der Einführung der Tiere in den Brutschrank die Injektion von Asc. unterlassen wurde, blieb der antagonistische Effekt der Asc. auf die Hyperthermie aus. Der Anstieg der Temperatur betrug in 6 Versuchen im Mittel 1,7 ± 0,13°.

Neben den bereits erwähnten Versuchen Kreitmaiers finden sich in der Literatur noch eine Reihe anderer Befunde, die in Übereinstimmung mit den eigenen Beobachtungen zugunsten eines Einflusses der Asc. auf die Wirkung des Thyroxins sprechen. So bestätigte Oehme[21] die antithyreotoxische Wirkung großer Asc.-Gaben auf den Grundumsatz. Eine Senkung des durch Thyroxin erhöhten Blut-Jodspiegels erreichte Löhr[22] mit Vitamin C. Demole und Ippen[23] vermochten bei Skorbutmeerschweinchen und bei normalen Tieren mit 20 mg Asc. täglich die durch 0,1 mg Thyroxin bewirkte Gewichtsabnahme aufzuheben. Ferner konnten Fischer und Oehme[24] die thyreotoxische Kreatinurie verhindern. Altenburger[25], sowie Steffen und Zois[26] erzielten Hemmung des Glykogenschwundes in der Leber bzw. in der Muskulatur bei hyperthyreotischen Tieren. Schließlich konnte Berg[27] den Verlust der Herzmuskulatur an Phosphagen eindämmen, der nach Thyroxineinwirkung eintritt.

[20] Kreitmaier, A.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **176**, 329 (1936). — [21] Oehme, C.: Ebenda **184**, 558 (1936). — [22] Löhr, H.: Ebenda **180**, 340 (1936). — [23] Demole, V., u. F. Ippen: Beitr. Physiol. **235**, 226 (1935). — [24] Fischer, Gg., u. C. Oehme: Klin. Wschr. **1937**, S. 1453. — [25] Altenburger, E.: Ebenda **1936**, S. 1129. — [26] Steffen, F., u. Th. Zois: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **189**, 75 (1938). — [27] Berg, H.: Ebenda **185**, 359 (1937).

Pyrifer.

Die Versuche mit Pyrifer wurden an Ratten und Kaninchen durchgeführt, und zwar unter Benutzung der intravenösen Injektion. Die Beeinflussung der Körpertemperatur hielt bei dieser Art der Applikation in dem gewählten Dosierungsbereich etwa 4–5 Stunden an. Der Gipfelpunkt der Temperaturkurve lag zwischen der 3. und 4. Stunde. Versuche an Ratten mit intraperitonealer Zufuhr von 250 E/kg Fieber zu erzeugen, verliefen erfolglos. Es trat vielmehr auf die intraperitoneale Injektion des Pyrifers ein Temperaturabfall ein, der zwischen 0,4—1,8° schwankte.

Tabelle 5. Pyrifer.

	Asc. mg/kg	Pyrifer E/kg	Zahl	Temperatur	Differenz
Ratten	—	250	7	+ 1,1 ± 0,2	
	1000	250	4	+ 1,0 ± 0,09	− 0,1 ± 0,28
Kaninchen	—	500	3	+ 2,1 ± 0,06	
	500	500	3	+ 1,8 ± 0,07	− 0,3 ± 0,1

In den antagonistischen Versuchen erzielte die Asc. weder bei Ratten noch bei Kaninchen eine Beeinflussung des Pyriferfiebers. Die Temperaturerhöhung blieb in beiden Versuchsreihen trotz Anwendung hoher Asc.-Gaben innerhalb der Größenordnung jener Temperaturwerte, die bei alleiniger Injektion von Pyrifer aufgefunden wurden.

β-Tetrahydronaphthylamin.

Mit β-Tetrahydronaphthylamin (β — T) konnte an Kaninchen ein temperatursteigernder Effekt ausgelöst werden, dessen Maximum nach $1^1/_2$—2 Stunden eintrat. Die Dauer des Temperaturanstieges hielt 3—4 Stunden bei der gewählten Dosierung an. Für das Meerschweinchen wiesen bereits Glaubach und Pick[28] daraufhin, daß β — T bei diesen Tieren einen Temperaturabfall hervorruft. Diese Autoren verwandten Dosen von 15 und 30 mg/kg, bei denen sich eine Temperatursenkung zwischen 0,6–1,6° bzw. 2,2–3,0° einstellte. In den eigenen Versuchen an Meerschweinchen kam es unter dem Einfluß von 30 mg/kg subcutan in 5 Fällen zu einer Temperaturerniedrigung von 1,0 ± 0,1°; in 3 weiteren Fällen erfolgte bei gleicher Dosierung ein Anstieg der Temperatur um 1,8 ± 0,7°. Bei 40 mg zeigte sich in 5 Fällen eine Hyperthermie von 1,2 ± 0,18°. Bei 1 Tier erfolgte ein Temperatursturz um 1,4°. 50 mg erzeugten bei 9 Tieren Temperaturerhöhung von 1,3 ± 0,17° und in 3 weiteren Fällen Abfall der Temperatur um 1,7 ± 0,1°. Bei Dosen von 60 und 80 mg/kg war stets ein Temperatursturz zu beobachten.

Bei Ratten bewirkte β — T in Dosen von 50 mg/kg bei 11 von 16 Tieren anfänglich einen Abfall der Temperatur um 1,8 ± 0,3° im Mittel; 1—2 Stun-

[28] Glaubach, S., u. E. P. Pick: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **151**, 341 (1930).

den später trat bei 10 dieser Tiere eine Temperaturerhöhung um $1-2^0$ ein. Bei den übrigen 5 Tieren erfolgte primär ein Temperaturanstieg von durchschnittlich $1{,}5^0$. 20 und 40 mg/kg hatten bei Ratten stets Temperatursenkung zur Folge.

Infolge dieser Unterschiede in der Wirkung des $\beta - T$ auf die Körpertemperatur von Ratten und Meerschweinchen konnten für die antagonistischen Versuche lediglich Kaninchen Verwendung finden.

Tabelle 6. β-Tetrahydronaphthylamin.

	Dosis mg/kg		Zahl	Mortalität	Temperatur	Differenz
	Asc.	β-T.				
Kaninchen	—	25	2	0	$-1{,}1 \pm 0{,}2$	
		30	3	0	$+1{,}7 \pm 0{,}45$	
		35	3	2	$+3{,}5 \pm 0{,}1$	
	500	30	3	0	$+1{,}3 \pm 0{,}16$	$-0{,}4 \pm 0{,}45$

Bei den antagonistischen Versuchen versagt die Asc. ebenso wie bei den Versuchen mit Pyrifer selbst in höheren Dosen gegenüber $\beta - T$. Die erzielten Differenzen in der Höhe des Temperaturanstieges fallen unter Berücksichtigung der Streuung in den Bereich der durch $\beta - T$ an unvorbehandelten Tieren bewirkten Hyperthermie.

β-Phenylisopropylamin.

Eine temperatursteigernde Wirkung des β-Phenylisopropylamin konnte bereits Haffner[29] in Kaninchenversuchen beobachten. Subcutan gegeben verursachten 10 mg/kg einen Temperaturanstieg von 1^0 bei einer Dauer von 4 Stunden; 20 mg erhöhten die Temperatur um $2-3^0$. In den eigenen Versuchen zeigte sich am Kaninchen bei subcutaner Darreichung eine Wirkung ähnlichen Ausmaßes auf den Wärmehaushalt. Die Dauer der Änderung der Körpertemperatur betrug je nach der Höhe der Dosen 2—4 Stunden; ihr höchstes Ausmaß erreichte sie nach $2-2^1/_2$ Stunden. 20 mg/kg bewirkten bei 2 von 3 Tieren Exitus. In Versuchen an Ratten löste β-Phenylisopropylamin subcutan stets einen umgekehrten Effekt aus, indem 10 mg/kg eine Temperatursenkung von $0{,}8^0$ und 20 mg von $1{,}7^0$ im Durchschnitt hervorriefen.

Tabelle 7. β-Phenylisopropylamin.

	Dosis mg/kg		Zahl	Mortalität	Temperatur	Differenz
	Asc.	β-Ph.				
Kaninchen	-	10	2	0	$+0{,}7 \pm 0{,}07$	
	—	15	3	0	$+1{,}7 \pm 0{,}28$	
	—	20	3	2	$+3{,}4 \pm 1{,}0$	
	500	15	3	0	$+1{,}4 \pm 0{,}1$	$-0{,}3 \pm 0{,}4$

[29] Haffner, F.: Klin. Wschr. **1938**, S. 1310.

Bei der Vorbehandlung der Kaninchen mit Asc. blieb wiederum ein antagonistischer Effekt der Asc. aus. Die Temperaturkurve zeigte in bezug auf Höhe und Dauer des Fiebers keine Änderung.

1-Phenyl-2-Methylaminopropan.

In Parallele zu den Versuchen mit Phenylisopropylamin wurden noch Untersuchungen mit dem nahe verwandten Phenyl-Methylaminopropan durchgeführt, bei denen an Meerschweinchen und Ratten bei subcutaner Injektion ein deutlicher Anstieg der Temperatur mit einer 2—3stündigen Dauer erzielt wurde. Das Maximum wird teilweise bereits nach 1 Stunde erreicht, zumeist aber erst nach $1^1/_2-2^1/_2$ Stunden. Anfängliche Versuche mit intraperitonealer Injektion bei Ratten wurden in der Folge zugunsten der subcutanen Zufuhr verlassen, bei der ebenfalls in allen Versuchen eine Beeinflussung der Temperatur im Sinne einer Erhöhung der Körperwärme erfolgte. Bei intraperitonealer Injektion führten 1,5 mg/kg bei 4 von 4 Tieren ad exitum innerhalb von 20—30 Minuten. Das Wirkungsbild verlief identisch mit den von Hauschild[30] beschriebenen. Auch bei subcutaner Injektion von 10 mg stellten sich toxische Erscheinungen ein; 2 von 12 Tieren starben sogar. Der letale Ausgang trat dabei unter dem Zeichen eines Kreislaufkollaps und Atemstillstandes ein, wenn die Tiere zum Zwecke der Temperaturmessung angefaßt wurden. Bei Meerschweinchen konnte bei subcutaner Injektion von 10 mg/kg gleichfalls eine Erhöhung der Körpertemperatur erzielt werden. Auch hier war wiederum der Anstieg der Temperatur mit dem Auftreten heftiger Erregungszustände verbunden.

Tabelle 8. Phenyl-Methylaminopropan.

	Dosis mg/kg		Zahl	Mortalität	Temperatur	Differenz
	Asc.	Ph.-M.				
Ratten	—	7,5	4	0	$+ 1{,}0 \pm 0{,}19$	
	—	10	12	2	$+ 1{,}9 \pm 0{,}28$	
	1500	7,5	4	0	$+ 1{,}3 \pm 0{,}27$	$+ 0{,}3 \pm 0{,}33$
	1500	10	8	2	$+ 2{,}0 \pm 0{,}29$	$+ 0{,}1 \pm 0{,}4$
Meerschweinchen	—	10	5	1	$+ 2{,}3 \pm 0{,}19$	
	1500	10	4	0	$+ 2{,}3 \pm 0{,}24$	$+ 0 \pm 0{,}34$

In den antagonistischen Versuchen mit Asc. erfuhr weder das allgemeine Wirkungsbild noch der Verlauf der hyperthermischen Kurve eine Änderung. Es stellen sich somit diese Versuche in Parallele zu den Ergebnissen mit Pyrifer, β-T. und Phenylisopropylamin, bei denen gemeinsam eine Gegenwirkung der Asc. fehlte.

[30] Hauschild, F.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 465 (1930).

Lactoflavin.

In Ergänzung der bisher besprochenen Untersuchungen wurden noch einige orientierende Versuche mit Lactoflavin durchgeführt. Die Ergebnisse gewinnen insbesondere ein Interesse in Hinblick auf die Befunde Jenneys[17], der mit dem Flavonolfarbstoff Quercitrin eine Unterdrückung des DNP.-Fiebers beschrieben hat. Die Flavonolfarbstoffe unterscheiden sich als N-freie Farbstoffe in ihrer chemischen Struktur von den Flavinfarbstoffen. Andererseits sind ihnen nach der Ansicht Jenneys und Czimmers[31] vitaminähnliche bzw. vitaminergänzende Eigenschaften zuzusprechen. Speziell im Kohlehydratumlauf sollen sie nach den Angaben dieser Autoren eine Rolle spielen.

Vorversuche an Ratten mit alleiniger Verwendung von Lactoflavin subcutan zeigten, daß diesem in höherer Dosierung ein temperatursenkender Einfluß mäßigen Grades zukommt. 3 mg/kg bewirkten eine Senkung der Temperatur um $0{,}9 \pm 0{,}18^0$ bei 5 Tieren und 5 mg/kg bei 9 Tieren um $0{,}9 \pm 0{,}56^0$. Es wurden dabei reines Lactoflavin-Bayer bzw. die im Handel befindliche Lactoflavinlösung der Firma Hoffmann-La Roche verwandt. Außer einer Temperatursenkung wurde bei der Anwendung dieser Präparate keine schädigende Nebenwirkung beobachtet entsprechend den Angaben von Kühn[32], Wiedenbauer und Wedemeyer[33], sowie Weslaw und Wroblewski[34].

Bei den antagonistischen Versuchen wurde Lactoflavin mit DNP. bzw. Pyrifer zugeführt unter Benutzung von Ratten und Kaninchen für die Untersuchungen mit DNP. bzw. Kaninchen für die Untersuchungen mit Pyrifer.

Tabelle 9. Lactoflavin und Dinitrophenol.

	Dosis mg/kg		Zahl	Mortalität	Temperatur	Differenz
	Lact.	DNP.				
Ratten	—	25	8	2	$+ 2{,}3 \pm 0{,}18$	
	—	40	6	2	$+ 1{,}9 \pm 0{,}11$	
	3,0	25	11	2	$+ 1{,}4 \pm 0{,}22$	$- 0{,}9 \pm 0{,}31$
	5,0	25	8	1	$+ 0{,}5 \pm 0{,}26$	$- 1{,}8 \pm 0{,}36$
	3,0	40	4	3	$+ 3{,}0 \pm 0{,}32$	$+ 1{,}1 \pm 0{,}28$
Kaninchen	—	30	6	0	$+ 1{,}7 \pm 0{,}19$	
	1,0	30	3	0	$+ 1{,}3 \pm 0{,}15$	$0{,}4 \pm 0{,}28$
	2,0	30	3	0	$+ 1{,}3 \pm 0{,}1$	$- 0{,}4 \pm 0{,}27$

Bei gleichzeitiger Injektion von Lactoflavin in einer Dosis von 1—2 mg/kg und DNP. konnte in den Kaninchenversuchen eine Beeinflussung des DNP.-Fiebers nicht erreicht werden. Die erzielten Tem-

[31] v. Jenney, A., u. A. Czimmer: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **183**, 571 (1936). — [32] Kühn, R.: Klin. Wschr. **1938**, S. 222. — [33] Wiedenbauer, F., u. H. E. Wedemeyer: Ebenda **1938**, S. 711. — [34] Weslaw, W., u. B. Wroblewski: Ebenda **1938**, S. 1150.

peraturunterschiede halten einer statistischen Auswertung der Einzelbefunde nicht stand. Bei Ratten ließ sich dagegen unter der Anwendung höherer Lactoflavingaben selbst unter Berücksichtigung der Streuung der Einzelwerte ein antagonistischer Einfluß für das Lactoflavin in eindeutiger Art nachweisen.

Tabelle 10. Lactoflavin und Pyrifer.

	Lact. mg/kg	Pyr. E/kg	Zahl	Temperatur	Differenz
Kaninchen	—	500	3	+ 2,1 ± 0,06	
	2,0	500	3	+ 1,8 ± 0,19	− 0,3 ± 0,13

Die Versuche mit Pyrifer intravenös und Lactoflavin subcutan an Kaninchen ließen in Parallele zu den Befunden bei der Injektion von Asc. und Pyrifer einen Einfluß des Lactoflavin gegenüber dem Pyriferfieber vermissen. Es scheint demnach berechtigt, für das Lactoflavin eine ähnliche Wirkung hinsichtlich seines Einflusses auf fieberhafte Zustände anzunehmen, wie sie der Asc. nach dem Ausfall unserer Versuchsergebnisse zuzusprechen ist.

Besprechung der Ergebnisse.

Eine Beurteilung der angeführten Versuchsergebnisse ergibt sich aus der Beantwortung folgender Fragestellung. Einmal bedarf es einer Klärung, welche Faktoren dafür maßgebend sind, daß die Asc. und auch das Lactoflavin bei ihrer Benutzung als Antidot gegenüber den untersuchten fiebererzeugenden Pharmaca sich verschiedenartig verhalten, indem sie auf einen Teil dieser Stoffe einen Einfluß antagonistischer Art ausüben, und bei anderen in ihrer Gegenwirkung versagen. Zweitens ist die Frage zu erörtern, welche Eigenschaften Asc. und Lactoflavin befähigen, auf bestimmte fiebererzeugende Pharmaca antagonistisch einzuwirken.

Eine Nebeneinander- bzw. Gegenüberstellung der Angriffspunkte und Wirkungsmechanismen der Fiebermittel in ihren gemeinsamen und verschiedenartigen Merkmalen bietet zunächst die Möglichkeit, dem Verständnis für den unterschiedlichen Ausfall der antagonistischen Versuche näherzukommen.

Der Angriffspunkt für die wärmeproduktionssteigernde Wirkung des DNP. ist nach der übereinstimmenden Ansicht der bisherigen Untersucher in der Peripherie zu suchen. Ohne den Anspruch zu erheben, eine vollständige Aufstellung des vorliegenden Untersuchungsmaterials zu geben, seien wenigstens folgende Ergebnisse erwähnt. Zugunsten der Annahme einer Beeinflussung der Peripherie ist zunächst anzuführen, daß die Temperatursteigerung durch DNP. unabhängig vom ZNS. auftritt. Eine Zerstörung des Rückenmarks und Hirns hemmt nach Cutting und Tainter[11] den Einfluß des DNP. auf die Temperatur nicht. Das gleiche

beobachten Magne und Mitarbeiter[35] bei Durchschneidung des Rückenmarks. Ebensowenig ist die Funktion der Schilddrüse nach den Angaben von Cutting und Mitarbeitern[36] maßgebend mitbeteiligt an der durch DNP. verursachten Temperaturerhöhung. Für die periphere Auslösung der stimulierenden Wirkung des DNP. auf den Wärmehaushalt spricht weiter die erhebliche Zunahme der Oxydationsprozesse. Der Gasstoffwechsel erwies sich in den Versuchen Magnes[36] sowie Tscherkess[12], Heymanns und Bouckaerts[37] erheblich gesteigert. Die Zunahme der Verbrennungsprozesse ist aber nicht nur am intakten Tier, sondern auch an isolierten überlebenden Extremitäten bei Durchströmung der Gefäße mit DNP. zu erzielen. Über derartige Untersuchungen berichten Magne, sowie Alwall und Scheff-Pfeifer[38]. Zugleich geht diese Steigerung der Oxydation parallel mit einer Beeinflussung des Zuckerhaushaltes, die sich im Auftreten einer Hyperglykämie (Tscherkess, Magne, Heymanns und Bouckaert) zu erkennen gibt, und die gefolgt ist von einer Abnahme des Glykogen in Muskulatur und Leber. Die Steigerung des KH.-Umsatzes steht scheinbar im engen Zusammenhang mit der Stimulation der Oxydationsprozesse, da nach Ehrenfest und Ronzoni[39] eine Hemmung der Glykolyse in der Muskulatur durch Jodacetat die Wirkung des DNP. auf die Muskulatur verhindert, und nach Magne die Steigerung der Oxydation erheblich langsamer und in geringerem Grade erfolgt, wenn die Tiere zuvor gehungert bzw. eine Adrenalininjektion erhalten haben. Aus diesen Angaben, die sich durch weitere Befunde aus der Literatur noch erweitern lassen, ergibt sich demnach als Wirkungsmechanismus des DNP. eine Beeinflussung der peripheren Gewebe im Sinne einer Erhöhung der Oxydationsprozesse auf Kosten einer vermehrten Verbrennung der Kohlehydrate.

Für das Thyroxin liegen entsprechende Ergebnisse von Mannsfeld und Mitarbeitern[40], sowie Oberdisse und Roda[41] vor, nach denen das Thyroxin seine stoffwechselsteigernde Wirkung unmittelbar an den peripheren Verbrennungsstätten entfaltet. Diesen Befunden stellt sich allerdings die Auffassung anderer Autoren entgegen. Neben Meyer[42] sieht insbesondere Issekutz[43] als primären Wirkungsort des Thyroxins das Wärmeregulationszentrum im Zwischenhirn an. Mannsfeld glaubt jedoch die Annahme dieser Autoren, die Issekutz auf ein Nachlassen der Thyroxinwirkung bei narkotisierten Tieren bzw. bei einer Durchtrennung des Rücken-

[35] Magne, H., A. Mayer u. L. Pantefol: Ann. Physiol. (Fr.) **8**, 1, 51 (1932). — [36] Cutting, W. C., D. A. Rytand u. M. L. Tainter: J. clin. Invest. (Am.) **13**, 547 (1934). — [37] Heymanns, C., u. J. J. Bouckaert: Ndld. Tschr. Geneesk. **1932**, S. 3649. — [38] Alwall, N., u. I. Scheff-Pfeifer: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **184**, 296 (1937). — [39] Ehrenfest, E., u. E. Ronzoni: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **31**, 318 (1933). — [40] Mannsfeld, G., F. v. Tyukody u. I. Scheff-Pfeifer: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **181**, 376 (1936). — [41] Oberdisse, K., u. E. Roda: Ebenda **178**, 252 (1935); K. Oberdisse: Ebenda **162**, 150 (1931). — [42] Meyer, H. H.: Arch. internat. Pharmacodynam. **38**, 1 (1930). — [43] Issekutz, B., u. B. v. Issekutz: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **177**, 442 (1935); Klin. Wschr. **1934**, S. 1060.

marks gründet, mit entsprechend durchgeführten Versuchen widerlegen zu können. Eine Steigerung der Oxydationsprozesse im peripheren Gewebe als ursächlicher Faktor für das Einsetzen des Temperaturanstiegs bleibt aber selbst bei einer eventuell zentralen Wirkungskomponente in jedem Falle gewiß zumal in der von uns gewählten Versuchsanordnung. Für die eigenen Versuche scheint es zudem wichtig, darauf hinzuweisen, daß dem Thyroxin ebenso wie dem DNP. ein Einfluß auf den Kohlehydrathaushalt zukommt, der sich in einer Abnahme der Glykogenvorräte bemerkbar macht. Nach Zufuhr von Thyroxin allein sinkt bekanntlich bereits das Glykogen in der Leber tief ab, so daß sie nach einigen Tagen nur noch Spuren enthält, während die Muskelglykogenvorräte nur wenig gemindert werden. Für die Beurteilung der eigenen Versuche ist aber zu berücksichtigen, daß zu der Thyroxinzufuhr eine Behandlung der Tiere im Brutschrank bei erhöhter Temperatur hinzugefügt ist. Speziell bei der Benutzung dieser Methode ist nach den Befunden Abderhaldens und Wertheimers[19] mit einer außergewöhnlich starken Beeinflussung der Glykogenbestände im Gesamtorganismus zu rechnen, so daß nach Durchführung der Versuche die Kohlehydratvorräte nahezu völlig verbraucht sind.

Im Gegensatz zu den Versuchen mit DNP. und Thyroxin wurde bei den übrigen untersuchten Pharmaca eine Beeinflussung des Fiebers durch Asc. vermißt. Das Versagen der Asc. als Antidot gegenüber der fiebererzeugenden Wirkung dieser Stoffe wird unseres Erachtens wiederum verständlich aus einer Besprechung der Angriffspunkte und Wirkungsmechanismen. Bei allen diesen Pharmaca ist nämlich gemeinsam das Auftreten fieberhafter Zustände ursächlich gebunden an eine Beteiligung zentral-nervöser Apparate sowie des Gefäßsystems.

So konnte Hoff[44] beim Pyrifer auf die Notwendigkeit des ZNS. zur Erzielung fieberhafter Zustände hinweisen. Nach Halsmarkdurchschneidung trat eine typische Änderung des Blutbildes trotz Pyriferinjektion nicht auf und ebenso blieb ein Anstieg der Temperatur aus. Über die Einwirkung des Pyrifers auf periphere Gewebsfunktionen konnten wir in der Literatur, soweit sie uns zur Verfügung stand, keine Angaben finden.

Als Angriffspunkt der fiebererzeugenden Wirkung β-T. betrachten die meisten Autoren ebenfalls das Wärmezentrum. Hinzu kommt als Ursache für die Erhöhung der Temperatur eine Wärmestauung infolge einer Kontraktion der Gefäße, die Mononobe[45], Amsler und Pick[46] am Froschdurchströmungspräparat, sowie Stern[47], Jonescu[48] und Pick[49] für das Kaninchen bzw. den Hund nachweisen konnten. Für zentrale Wirkungsmechanismen sprechen hinsichtlich der temperatursteigernden Wirkung

[44] Hoff, F.: Z. exper. Med. **63**, 277 (1928). — [45] Mononobe, K.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **128**, 202 (1928). — [46] Amsler, C., u. E. P. Pick: Ebenda **85**, 61 (1920). — [47] Stern, R.: Virchows Arch. **115**, 14 (1889); **117**, 420 (1889). — [48] Jonescu: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **60**, 345 (1909). — [49] Pick, F.: Ebenda **42**, 399 (1899).

des β-T. folgende Befunde. Nach Ausschaltung des Wärmezentrums fehlte in den Versuchen Ott und Scott[50], sowie Citron und Leschke[51] und Sacharoff[52] ein Anstieg der Temperatur. Allerdings läßt sich gegen diese Befunde einwenden, daß infolge des Mangels einer genügenden Wärmezufuhr von außen nach Durchführung des operativen Eingriffs nicht für eine normale Ausgangstemperatur gesorgt war. Selbst unter Beachtung dieser Versuchsbedingungen können aber nach Borchardt[53] dekapitierte Tiere nach einer Injektion von β-T. nicht mehr fiebern. Im Gegensatz hierzu fand Isenschmidt[54] trotz Hirnstamm- und Halsmarkdurchschneidung bei Kaninchen eine starke temperatursteigernde Wirkung von β-T. Er nimmt daher als Ursache für das β-T.-Fieber neben der zentralen Auslösung eine Erregung der sympathischen Endapparate an. Auf eine zumindest gleichzeitige Beteiligung zentraler Wirkungsmechanismen am intakten Tier weisen ferner die Befunde Barbours und Wings[55] hin, die zeigen konnten, daß eine Zufuhr des β-T. in die Gegend des Nucleus caudatus eine besonders rasche und schroffe Erhöhung der Temperatur zur Folge hat. Ferner bieten die Befunde Skowronskis[56] eine Stütze für die Annahme zentraler Angriffspunkte, da bei seinen Untersuchungen Schlafmittel und ein Teil der Antipyretica das Auftreten des β-T.-Fiebers unterdrücken konnten. Auf eine Mitbeteiligung des Kh.-Haushaltes für den Eintritt fieberhafter Zustände nach β-T. scheinen zunächst die Beobachtungen Nishidas und Watanabes[57] hinzuweisen, die am Kaninchen nach mittleren Gaben von β-T. eine Vermehrung des Blutzuckers und eine Abnahme des Leber- und Muskelglykogens fanden. Allerdings geht der Verlust an Muskelglykogen nicht parallel der Zunahme der Hyperthermie. Borchardt[53] konnte nur einen mäßigen Anstieg des Blutzuckers nach Injektion von 0,5 ccm einer 5%ige β-T.-Lösung feststellen. Ebenso sah Morita[58] nur einen geringen hyperglykämischen Effekt bei Injektion von 0,015 mg/kg β-T. und Rosenthal, Licht und Freund[59], desgleichen bei Injektion von 0,05 mg/kg. Der Auffassung, daß der Temperaturanstieg ursächlich durch eine Mobilisation von Zucker und eine Stoffwechselsteigerung mit Erhöhung der Verbrennungsvorgänge bedingt ist, ist jedoch entgegenzuhalten, daß nach Ott und Scott[50] auch an Kaninchen ohne Glykogenvorräte Hyperthermie auftritt und nach Borchardt[53] leberentnervte Tiere sowie nach Rosenthal, Licht und Melchior[60] selbst entleberte Tiere mit Untertemperaturen durch β-T. zu beträchtlichem Fiebern gebracht werden können.

---

[50] Ott u. Scott: J. exper. Med. (Am.) **Bd. 9** (1909); zit. nach Isenschmidt. — [51] Citron, J., u. E. Leschke: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **14**, 379 (1913). — [52] Sacharoff, G. P.: Ebenda **7**, 225 (1910). — [53] Borchardt, W.: Ebenda **137**, 45 (1926). — [54] Isenschmidt, R.: Ebenda **85**, 271 (1920). — [55] Barbour, H. G., u. E. S. Wings, J. Pharmacol. (Am.) **5**, 105 (1913). — [56] Skowronski, V.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **146**, 1 (1928). — [57] Nishida, Y., u. E. Watanabe: Mitt. med. Akad. Kyoto **14**, 291 (1935). — [58] Morita, S.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **78**, 244 (1911). — [59] Rosenthal, F., H. Licht u. H. Freund: Ebenda **103**, 17 (1924). — [60] Rosenthal, F., H. Licht u. E. Melchior: Ebenda **115**, 138 (1926).

Ebenso stellt das Phenylisopropylamin ein Mittel dar, dem ausgesprochen zentralerregende Wirkung zukommen. Eine Beeinflussung des ZNS. starken Grades konnte bereits in klinischen Versuchen am Menschen festgestellt werden (Prinzmetal und Bloomberg[61], Mahlo[62], Stortz[63], weitere Literatur siehe dort). Experimentell bestätigen diese Befunde Detrich und Mitarbeitern[64], sowie Meidinger[65], der speziell am Kaninchen zeigen konnte, daß Phenylisopropylamin auf die kortikalen Zentren durch eine Erregung der zentralen Neurone wirkt. Csinady und Dirner[66] wiesen zudem nach, daß der fiebererzeugende Effekt dieses Mittels durch Pyramidon, Luminal und Urethan leicht verhindert werden kann, und daß er ebenso ausbleibt nach Dekapitation der Tiere. Mit der zentralen Komponente ist nach Ansicht dieser Autoren als maßgebender Faktor für das Auftreten des Temperaturanstieges verbunden eine Wärmestockung infolge Verengerung der Hautgefäße. Eine periphere Wirkung auf den Kh.-Umsatz und eine Anfachung der Oxydationsprozesse spielen dagegen höchstens eine untergeordnete Rolle und kommen als Ursache des Fiebers nicht wesentlich in Betracht. Nach Versuchen von Ehrich und Krumbhaar[67] an Ratten ist bei einer Einführung des Phenylisopropylamins sogar mit einer Zunahme des Glykogengehaltes zu rechnen, während der Fettgehalt in Leber und Geweben abnimmt. Ebenso sprechen gegen eine weitgehende Beteiligung des Kh.-Stoffwechsels die Befunde Myerson und Mitarbeitern[68], sowie Stortz[63] und Molitsch und Poliakoff[69] am Menschen, die gemeinsam eine Beeinflussung des Blutzuckers nur in geringen Ausmaßen beobachten konnten und zudem nur eine geringgradige Steigerung des Grundumsatzes feststellen konnten.

Beim Phenylmethylaminopropan fehlen bisher Untersuchungen, durch die die Frage nach dem Angriffspunkt der fiebererzeugenden Wirkung eindeutig geklärt wird. Bei der nahen Verwandtschaft mit dem Phenylisopropylamin ist es jedoch berechtigt, ähnliche Wirkungsmechanismen als Ursache der Temperaturerhöhung anzunehmen. Zudem bietet das allgemeine Wirkungsbild weitgehende Unterlagen, die auf eine starke zentrale Wirksamkeit schließen lassen bei gleichzeitiger Beeinflussung des Gefäßsystems, die nach Hauschild[30] als eine periphere Gefäßkontraktion zu deuten ist. Da außerdem eine Beeinflussung des Blutzuckers nach den Beobachtungen Hauschilds wesentlicher Art nicht stattfindet, ist wenigstens in einigen Punkten ein analoges Verhalten von Phenylisopropylamin und Phenylmethylaminopropan nachweisbar.

---

[61] Prinzmetal, M., u. W. Bloomberg: J. amer. med. Assoc. **105**, 2051 (1935). — [62] Mahlo, J.: Dtsch. med. Wschr. **1938**, S. 10. — [63] Stortz, H.: Klin. Wschr. **1938**, S. 1280. — [64] Detrich, L. E., R. Millikan, F. S. Modern u. C. H. Thienes: J. Pharmacol. (Am.) **60**, 56 (1937). — [65] Meidinger, F.: C. r. Soc. Biol. **128**, 748 (1938). — [66] Csinady, E. v., u. L. Dirner: Tagung Ungar. Physiol. Gesellschaft Szeged, zit. nach Rona: Ber. Physiol. **101**, 673 (1937). — [67] Ehrich, W., E. u. E. B. Krumbhaar: Ann. internat. Med. **10**, 1874 (1937). — [68] Myerson, A., J. Lomann, W. Daneshek: J. med. Sci. **192**, 560 (1936). — [69] Molitsch, M., u. S. Poliakoff: Arch. Pediastr. **54**, 683 (1937).

Es zeigen somit sämtliche Pharmaca, bei denen die Asc. als Antidot gegenüber der diesen eigenen temperatursteigernden Wirkung versagt, einen gemeinsamen Wirkungsmechanismus, der in einer Beeinflussung zentralnervöser Elemente und des zentralen Wärmeregulationsapparates besteht unter gleichzeitiger Mitbeteiligung des Gefäßsystems, während die Wirkung auf den Zuckerhaushalt für das Auftreten des Fiebers keine wesentliche Rolle spielt. Im Gegensatz dazu sind antagonistische Wirkungen der Asc. gegenüber fiebererzeugenden Pharmaca zu erzielen, bei denen die wärmesteigernde Wirkung gebunden ist an eine vorwiegende Beeinflussung der peripheren Gewebe unter Zunahme der Oxydationsprozesse auf Kosten der Kohlehydrate.

Es bleiben noch einige Befunde zu erwähnen, die für die weitere Klärung des Antagonismus zwischen Asc. und Fiebermitteln von Bedeutung sind und die zugleich eine Stellungsnahme zu der zweiten Fragestellung ermöglichen, durch welche Eigenschaften Asc. befähigt ist, auf bestimmte fieberhafte Zustände eine Gegenwirkung auszuüben. Gewisse Anhaltspunkte sind bereits durch die Festlegung der Angriffspunkte bei den einzelnen untersuchten Substanzen gegeben, und zwar in dem Sinne, daß die Asc. vorwiegend in das periphere Geschehen einzugreifen vermag, wobei sie sich offenbar speziell auf eine Beeinflussung des Ablaufs der Oxydationsprozesse im Gewebe bzw. des Kh.-Stoffwechsels beschränkt. Hinsichtlich des Antagonismus Asc. und DNP. sind wir in der Lage, noch weitere Hinweise zu geben. Diese werden ermöglicht dadurch, daß Lactoflavin gegenüber DNP. ein gleichartiges Verhalten zeigt wie die Asc., und zudem sich für beide Substanzen bezüglich ihres Wirkungsmechanismus Parallelen aufweisen lassen. Diese sind gegeben durch die Kennzeichnung der Asc. und des Lactoflavins als Redoxsysteme, eine Eigenschaft, aus der sich die Möglichkeit für eine Einschaltung dieser Stoffe in den Ablauf peripherer Oxydationsprozesse bzw. in das Geschehen des intramediären Stoffwechselabbaues ohne Schwierigkeit ableiten läßt.

Daneben bleibt aber zu berücksichtigen, ob die Gegenwirkung von Asc. und Lactoflavin auf DNP. vielleicht als eine direkte Folge des Einsetzens von Entgiftungsvorgängen zu deuten ist. Nach der Ansicht Staubs[70] besteht die Möglichkeit, daß die Nitrophenole ihre Wirkung im Organismus in einem Oxydoreduktionssystem entfalten, indem sie zunächst zu Nitrophenolhydroxylamin reduziert werden, um in einer zweiten Phase unter Abgabe des Wasserstoffs erneut oxydiert zu werden. Auch in den Ablauf dieses Geschehens können vermutlich Asc.-Lactoflavin eventuell eingreifen. Einmal ist bei einer Verschiebung der Redoxlage des Organismus, die sich mit Hilfe von Asc. und Lactoflavin erzielen läßt, zugleich mit einer Änderung im Verhalten anderer Redoxsysteme zu rechnen. Zudem handelt es sich

[70] Staub, H.: Klin. Wschr. **1935**, S. 185.

bei der Asc. und beim Lactoflavin um Redoxsysteme, die durch ein starkes negatives Potential gekennzeichnet sind und die infolgedessen stark reduzierende Eigenschaften besitzen.

Zur Klärung der Frage, ob derartige Vorgänge speziell beim Antagonismus zwischen Asc. und DNP. eine Rolle spielen, wurden einige Reagenzglasversuche* unter Ansatz von Asc. und DNP. bei Anwesenheit von Glucose durchgeführt. Diese Versuche sind zwar noch nicht abgeschlossen, jedoch deuten die bisherigen Befunde darauf hin, daß bei Zusatz von Asc. und Glucose eine Umsetzung des DNP. in Form einer Reduktion einsetzt, die sich an einer Farbänderung und der Ausfällung eines kristallinischen Produktes zu erkennen gibt. Allerdings war dieses Ergebnis bisher nur unter unphysiologischen Bedingungen bei erhöhter Temperatur und alkalischer Reaktion zu erzielen. Bei alleiniger Verwendung von Asc. und DNP. konnte trotz der sonst gleichen Versuchsanordnung eine Umwandlung des DNP. bisher nicht beobachtet werden. Als Stütze für unsere Auffassung lassen sich außerdem noch die Befunde Kuhns und Weigands[71] anführen, denen es gelang, aus Dinitrobenzol durch Reduktion mit Asc. Nitrophenylhydroxylamin darzustellen.

Zusammenfassung.

Es wurde an Ratten, Meerschweinchen und Kaninchen der Einfluß der Ascorbinsäure auf künstlich erzeugte Fieberzustände geprüft. Bei diesen Versuchen konnte mit Ascorbinsäure die temperatursteigernde Wirkung des 1-2-4-α-Dinitrophenol unterdrückt werden. Ebenso ließ sich an Ratten eine Erhöhung der Temperatur, die nach Thyroxininjektionen und Behandlung der Tiere mit hohen Außentemperaturen im Brutschrank eintrat, durch Ascorbinsäuregaben wirksam bekämpfen. Gegenüber fieberhaften Zuständen, die durch Pyrifer, β-Tetrahydronaphthylamin, β-Phenylisopropylamin und 1-Phenyl-2-Methylaminopropan ausgelöst wurden, versagte dagegen die Ascorbinsäure als Antidot bei jeder der benutzten Tierarten.

Orientierende Versuche mit Lactoflavin zeigten, daß diesem wahrscheinlich ein gleiches Verhalten gegenüber fiebererzeugenden Pharmaca zuzusprechen ist.

Aus der Besprechung der Angriffspunkte der einzelnen Fiebermittel kann gefolgert werden, daß die Wirkung der Ascorbinsäure vorwiegend besteht in einer Beeinflussung des Geschehens in den peripheren Geweben, und daß sie vermutlich geknüpft ist an Eigenschaften, die der Ascorbinsäure als Redoxsystem zukommen. Reagenzglasversuche scheinen diese Auffassung zu bestätigen.

* Diese Versuche wurden von Herrn Dr. Brunner ausgeführt und uns in liebenswürdiger Weise zur Verfügung gestellt.

[71] Kuhn, R., u. F. Weigand: Ber. d. dtsch. chem. Ges. **69**, 1969 (1936).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Leipzig.
(Direktor: O. Gros.)

Untersuchungen über die pharmakologische Beeinflussung vegetativer Zentren.

III. Mitteilung.

Von

Hans T. A. Haas.

(Eingegangen am 6. März 1939.)

In Fortsetzung früherer Arbeiten[1], die sich mit dem Nachweis zentraler Einflußmöglichkeiten mehrerer vegetativer Pharmaka bei intracisternaler (i. c.) Zufuhr befassen, wurden neue Versuche durchgeführt. Bereits bei den Untersuchungen über den Gehalt des ZNS. an Azetylcholin und seine Beeinflussung durch vegetative Pharmaca konnte bei der Durchführung antagonistischer Versuche gezeigt werden, daß unter dem Einfluß eines Narkoticums das Einsetzen der Adrenalinwirkung verhindert wurde, während bei Vorbehandlung mit Ergotamin der Adrenalineffekt in Form einer Minderung der Azetylcholinmenge im Bereich der v. Z. (vegetativen Zentren) unverändert auftrat.

Diese Befunde versuchten wir durch weitere Untersuchungen zu ergänzen. Ihre Aufgabe war es, zu prüfen, inwieweit eine Lähmung des ZNS. den Effekt zu ändern vermag, den vegetative Pharmaca auf bestimmte Funktionen des Organismus, wie Temperatur, Blutzucker und Blutstatus, ausüben. Insbesondere interessierte dabei, welche Einflußmöglichkeiten Narkotica auf vegetative Pharmaca haben, denen auf Grund der früheren Befunde bei i. c. Injektion eine zentrale Wirkung zugesprochen wurde, und wie sich im Vergleich hierzu am narkotisierten Tier solche Pharmaca verhalten, deren Wirkungsort vorwiegend in der Peripherie zu suchen ist.

In Parallele zu diesen Untersuchungen wurden ferner antagonistische Versuche mit peripher angreifenden Pharmaca durchgeführt. Bei diesen wurde geprüft, welchen Einfluß eine teilweise bzw. nahezu völlige Ausschaltung peripherer vegetativer Nervenendigungen auf erregend wirkende vegetative Pharmaca hat bei i. v. bzw. i. c. Zufuhr dieser Stoffe. Nach den Ergebnissen der früheren Arbeiten konnte angenommen werden, daß ein Teil der untersuchten vegetativen Pharmaca bei der Benutzung dieser beiden Applikationsformen auf eine Hemmung des peripheren vegetativen Systems verschieden antworten würde. Derartige Unterschiede im Ausfall der antagonistischen Versuche sind zu erwarten bei solchen Pharmaca,

[1] Haas, H. T. A.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 119 (1938); **192**, 117 (1939).

die bei der Einführung in die Liquorräume einen erheblichen stärkeren Einfluß auf bestimmte vegetativ innervierte Funktionen ausüben als bei intravenöser Injektion. Darüber hinaus ist aber bei derartig wirkenden Substanzen auf Grund der früheren Beobachtungsresultate damit zu rechnen, daß bei i. c. Injektion im Gegensatz zur i. v. Applikation nicht nur Unterschiede in der Wirkstärke eintreten, sondern zudem eine Verschiebung der Angriffspunkte und damit auch der Wirkungsmechanismen stattfindet. Dadurch würde um so eher eine Erklärung für ein eventuell verschiedenartiges Verhalten peripher hemmender Substanzen gegenüber vegetativen Pharmaca bei wechselnden Versuchsbedingungen zu gewinnen sein.

Antagonistische Versuche wurden bei i. c. Zufuhr vegetativer Pharmaca bereits vereinzelt von anderen Autoren ausgeführt; sie werden zur Vermeidung von Wiederholungen jeweils im Vergleich zu den eigenen Untersuchungsergebnissen zitiert werden.

Eigene Versuche.

Vorversuche.

Methodisch wurde die gleiche Versuchsanordnung benutzt, wie sie sich in der 1. Mitteilung[1] angegeben findet.

Als Narkoticum wurde Paraldehyd subcutan in Gaben von 100 und 300 mg/kg verwandt, nachdem in Vorversuchen festgestellt war, daß diese Dosen keinen wesentlichen Einfluß auf die vegetativ innervierten Funktionen besitzen. Die Tabelle 1 zeigt die Wirkung des Paraldehyd auf Temperatur, Blutzucker und Blutbild. Die Zahlenangaben der Tabelle beziehen sich auf Mittelwerte, die sich aus je 3 Einzelversuchen ergaben. Auch bei den übrigen Tabellen sind stets die Werte für die Temperaturbeeinflussung, sowie für die Änderung des Blutzuckers und Blutbildes im Mittel angegeben; dieses wurde ebenfalls aus mehreren zumeist 3—4 Einzelbestimmungen errechnet.

Tabelle 1. Paraldehyd subcutan.

Dosis mg/kg	Temperatur	Zucker %	Leuko. %	Neutr. %
100	— 0,3	+ 0,3	— 3	0
300	— 0,4	+ 5,6	— 13	— 3
600	— 1,5	+ 18,9	— 37	— 8

Zur Blockade der Peripherie wurde bei den Versuchen mit Azetylcholin und Pilocarpin Atropin verwandt, für das eine Gegenwirkung auf diese Pharmaca bei intravenöser (i. v.) Injektion genügend gesichert erscheint. Für Pilocarpin sind speziell hinsichtlich der Beeinflussung der Pilocarpinhyperglykämie durch Atropin die Ergebnisse Takaos[2], Cannovos[3], Bornstein und Vogels[4], Wulfs[5], sowie Watanabes[6] zu nennen.

[2] Takao, I.: J. Biochem. (e.; Jap.) **14**, 215 (1931). — [3] Cannovo, L.: Arch. farmacol. sperim. **43**, 263 (1927). — [4] Bornstein, H., u. R. Vogel: Biochem. Z. **118**, 1 (1921). — [5] Wulf, H.: Ebenda **214**, 382 (1929). — [6] Watanabe, F.: Tohoku J. exper. Med. **27**, 416 (1935).

Nach den Angaben der letzteren Autoren und nach Zuntz und Vogel[7] wirkt Atropin auch auf die Veränderungen des Blutbildes, die Pilocarpin hervorruft, antagonistisch.

Im Vergleich zu den Versuchen mit Azetylcholin und Pilocarpin wurden ferner antagonistische Versuche mit Pikrotoxin-Atropin durchgeführt.

Bei Adrenalin wurde eine Vorbehandlung der Tiere mit Ergotamin vorgenommen, für das ein antagonistischer Einfluß gegenüber Adrenalin bereits feststeht. Im Zusammenhang mit den vorliegenden Untersuchungen sind die Befunde Paschkis und Schwoners[8] zu erwähnen, die eine Unterdrückung des von Adrenalin bewirkten Leukocytenanstiegs durch Ergotamin erzielten. Für die Beeinflussung der Adrenalinhyperglykämie liegen zahlreiche Belege vor, wie die zusammenfassende Übersicht Bargers[9] zeigt.

Tabelle 2.

Atropin intravenös.

Dosis mg/kg	Temperatur	Zucker %	Leuko. %	Neutr. %
1,0	+ 0,4	+ 21,5	− 10	− 4
Ergotamin intravenös.				
Dosis mg/Tier				
0,1	− 0,3	− 7,6	− 5	− 5
0,25	− 0,5	− 13,0	− 19	− 10

Atropin und Ergotamin wurden i. v. verabreicht, und zwar in Dosen, die nach Vorversuchen keine wesentliche Änderung vegetativer Funktionen herbeiführen. Die Resultate dieser Versuche sind in der Tabelle 2 zusammengefaßt. Den angeführten Werten liegen wieder je 3–4 Einzelbestimmungen zugrunde.

Beim Atropin war infolge seines raschen Abbaues im Kaninchenkörper von vornherein mit einem geringen Einfluß auf die vegetativen Funktionen zu rechnen. Die eigenen Befunde lassen sich zudem durch entsprechende Angaben der Literatur stützen. So erzielte Wulf[5] am Kaninchen bei i. v. Darreichung von 1 mg Atropin ebenfalls durchschnittlich einen leichten Anstieg des Blutzuckerspiegels. Lang und Vas[10] konnten bei subcutaner Anwendung einer Dosis von 1 mg nur einen Abfall des Blutzuckers beobachten. Eine Erhöhung des Blutzuckergehaltes führten erst Dosen über 2 mg herbei. Der Einfluß des Atropin auf das Blutbild ist nach Hoff[11] keinen Gesetzmäßigkeiten unterworfen. Bei i. v. Injektion am Kaninchen erzielten Backmann und Mitarbeiter[12] erst mit weit höheren Dosen einen Abfall der Leukocyten von deutlichem Ausmaß.

Für das Ergotamin wurden die vorliegenden Angaben der Literatur bereits in der 1. Mitteilung[1] zitiert.

---

[7] Zuntz, H., u. R. Vogel: Z. exper. Med. **29**, 159 (1922). — [8] Paschkis, K., u. A. Schwoner: Med. Klin. **1934**, S. 900. — [9] Barger, G.: Hefft. Handb., Ergbd. **6**, 159 (1938). — [10] Lang, S., u. M. Vas: Biochem. Z. **192**, 137 (1928). — [11] Hoff, F.: Ergebn. inn. Med. **35**, 195 (1928). — [12] Backmann, E. L., G. Edström, E. Grahs u. G. Hultgren: C. r. Soc. Biol. **93**, 190 (1925).

Antagonistische Versuche.

Für die Beurteilung der antagonistischen Versuche wurden wiederum, wie in der 2. Mitteilung[1], statistische Auswertungsmethoden benutzt. Zur besseren Übersichtlichkeit werden jedoch in den Tabellen lediglich die Mittelwerte angegeben. Die Bewertung der Differenz zwischen den Ergebnissen bei verschiedenartiger Behandlung der Tiere erfolgte aber stets unter Berücksichtigung der Streuung und der mittleren Fehlerbreite der Einzelbefunde aus den jeweils zum Vergleich kommenden beiden Versuchsreihen. Es beziehen sich daher die Angaben des Textes immer auf einwandfrei gesicherte Ergebnisse. Die Beobachtung der Temperatur und ihre Beeinflussung durch vegetative Pharmaca ergab allerdings, abgesehen von einzelnen Versuchen, fast in allen übrigen Versuchsreihen nie stark unterschiedliche Resultate. Es konnte daher bei der Anwendung statistischer Methoden eine antagonistische Wirkung des Narkoticums bzw. ein antagonistischer Einfluß der zur Ausschaltung der Peripherie benutzten Pharmaca zumeist nicht gefolgert werden. Wir fügen in den Tabellen die Angaben über das Verhalten der Körpertemperatur als Ergänzung des Beobachtungsmaterials ein, für die Entscheidung über das Einsetzen bzw. Fehlen antagonistischer Wirkungen sind sie jedoch in Ermangelung eindeutiger Differenzen mit geringen Ausnahmen nicht verwertbar.

Picrotoxin.

Tabelle 3. Pikrotoxin.

Pikrotoxin intracisternal					Nach Vorbehandlung mit Paraldehyd 100 mg/kg			
Dosis γ/Tier	Temperatur	Zucker %	Leuko. %	Neutr. %	Temperatur	Zucker %	Leuko. %	Neutr. %
6	− 1,4	+ 80,2	− 30	− 10	− 1,5	+ 86,0	− 42	− 21
					300 mg/kg			
6	− 1,4	+ 80,2	− 30	− 10	− 0,5	+ 20,7	− 12	− 6
12	− 1,1	+ 72,8	− 38	− 13	− 0,7	+ 55,5	− 30	− 14
18	− 1,2	+ 74,2	− 25	− 12	− 2,2	+ 180,0	− 37	− 13

Unter Berücksichtigung der obigen Gesichtspunkte ergibt sich beim Picrotoxin, daß durch eine Vorbehandlung mit Paraldehyd in Dosen von 300 mg/kg bei Zufuhr auf subcutanem Wege 10 Minuten vor der Picrotoxininjektion lediglich die Wirkung einer i. c. verabreichten Picrotoxindosis von 6 γ aufgehoben wurde. Bei höheren Picrotoxingaben versagt dagegen das Paraldehyd in seiner Gegenwirkung. Die Unterschiede in der Änderung von Temperatur, Blutzucker und Blutstatus fallen, soweit solche überhaupt erzielt wurden, in den Bereich der Schwankungsbreite jener Befunde, die bei unnarkotisierten Tieren erhoben wurden. Bei kleineren Paraldehyden fehlt bereits ein antagonistischer Einfluß gegenüber 6 γ Picrotoxin.

Die Zufuhr des Paraldehyds erfolgte stets 10 Minuten vor der Injektion des Picrotoxins. Dieser Abstand wurde auf Grund früherer Beobachtungen[13] über den Antagonismus zwischen Paraldehyd und Picrotoxin gewählt. Die verabreichten Picrotoxingaben liegen in allen Versuchen einmal weit oberhalb der kleinsten i. c. wirksamen Dosen, deren untere Grenze mit 0,001 ermittelt wurde. Andererseits fallen sie außerhalb des eigentlichen Bereiches peripher wirksamer Gaben.

Die eigenen mit Paraldehyd und Picrotoxin erzielten Resultate stehen in einer gewissen Parallele zu den Befunden Rosenthal und Wallachs[14], die bei peripherer subcutaner Anwendung von Picrotoxin nachweisen konnten, daß eine Paraldehydnarkose den Temperatursturz von Picrotoxin zu hemmen vermag. Ferner konnten diese Autoren durch Behandlung mit Chloralhydrat die Picrotoxinhyperglykämie des Kaninchens völlig und mit Chloreton und Veronal nahezu aufheben.

In weiteren Versuchen wurde geprüft, inwieweit intravenös verabreichtes Atropin die Wirkung des Picrotoxins zu beeinflussen vermag, wenn dieses i. c. und andererseits i. v. in den Organismus eingeführt wird.

Tabelle 4. Pikrotoxin.

Pikrotoxin intracisternal					Nach Vorbehandlung mit Atropin 1 mg/kg			
Dosis γ/Tier	Temperatur	Zucker %	Leuko. %	Neutr. %	Temperatur	Zucker %	Leuko. %	Neutr. %
0,1	− 0,2	+ 24,4	0	0	− 0,5	+ 29,0		
1,0	− 1,6	+ 132,0	− 30	− 11	− 0,3	+ 86,0	− 36	− 7
12,0	− 1,1	+ 72,8	− 38	− 13	− 3,7	+ 162,5	− 28	− 19
		intravenös						
40	− 0,1	+ 26,6	− 35	− 12	− 0,4	+ 18,0	− 3	− 3
400	− 0,4	+ 72,6	− 33	− 28	− 0,7	+ 38,4	− 15	− 9

Wie die Tabelle zeigt, vermag Atropin gegenüber i. c. zugeführtem Picrotoxin selbst bei der Anwendung sehr kleiner Dosen keine Gegenwirkung zu entfalten. Bei der Berücksichtigung der Streuung sind alle in der Tabelle vorhandenen Unterschiede nicht als positiv zu bezeichnen. Bei i. v. Injektion des Picrotoxins vermag Atropin in gleicher Dosierung dagegen selbst weit höhere Picrotoxindosen antagonistisch zu beeinflussen. Allerdings beschränkt sich erwartungsgemäß die Gegenwirkung des Atropins lediglich auf eine Abschwächung des Picrotoxineffektes infolge der zentral erregenden Wirkung des Picrotoxins, die selbst bei peripherer Darreichung einsetzt.

Der Ausfall der beiden Versuchsreihen fügt sich somit in die bereits in der Literatur vorliegenden Befunde ein, aus denen das Vorhandensein direkter Angriffspunkte des Picrotoxins an den vegetativen Zentren abgeleitet wurde.

[13] Haas, H. T. A.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **184**, 468 (1937). — [14] Rosenthal, F., u. G. Wallach: Ebenda **181**, 219 (1936).

Azetylcholin.

Für das Azetylcholin haben die früheren Untersuchungen einen ausschließlich peripher gerichteten Wirkungsmechanismus nahegelegt. Für diese Annahme bieten auch die antagonistischen Versuche weitere Belege.

Tabelle 5. Azetylcholin.

Azetylcholin intracisternal					Nach Vorbehandlung mit Paraldehyd 300 mg/kg			
Dosis γ/Tier	Temperatur	Zucker %	Leuko. %	Neutr. %	Temperatur	Zucker %	Leuko. %	Neutr. %
10	− 0,2	− 32,4	− 41	− 12	− 0,1	− 29,1	− 40	− 8
50	− 0,3	+ 30,6	− 50	− 12	− 0,2	+ 30,0	− 38	− 13

Die Wirkung des i. c. injizierten Azetylcholins auf die vegetativ innervierten Funktionen tritt, wie die Tabelle zeigt, in gleichen Ausmaßen unter Paraldehyd ein, wie am unvorbehandelten Tier. Die geringgradigen Abweichungen in den Ergebnissen beider Versuchsreihen fallen mit der normalen Schwankungsbreite zusammen. Paraldehyd wurde wiederum 10 Minuten vor der Azetylcholininjektion subcutan verabreicht, und zwar in der gleichen Dosierung wie bei den Pikrotoxinversuchen.

In einer zweiten Versuchsreihe wurde der Einfluß des Atropins auf i. c. und i. v. zugeführtes Azetylcholin geprüft.

Tabelle 6. Azetylcholin.

Azetylcholin intracisternal					Nach Vorbehandlung mit Atropin 1 mg/kg			
Dosis γ/Tier	Temperatur	Zucker %	Leuko. %	Neutr. %	Temperatur	Zucker %	Leuko. %	Neutr. %
100	− 1,3	+ 81,1	− 40	− 24	− 0,6	− 11	− 9	− 2
		intravenös						
100	− 0,8	+ 23,1	− 45	− 23	− 0,3	− 6,9	− 9	− 3

Nach Atropinisierung kommt eine Azetylcholinwirkung in einem Umfange wie bei den unbehandelten Tieren weder bei der Injektion des Azetylcholins in die Liquorräume, noch bei einer Zufuhr über den Blutweg zustande. In Übereinstimmung zu den früheren Ergebnissen erweisen somit auch diese Versuche, zumal auch ein Versagen der Paraldehydgegenwirkung festzustellen ist, daß zentrale Angriffspunkte für das Azetylcholin selbst bei der Injektion in die Cisterne nicht wesentlich in Frage kommen können.

Diesen eigenen experimentellen Erfahrungen lassen sich allerdings mehrere Angaben der Literatur entgegenstellen. So entfaltet nach Dikshit[15] Atropin in Dosen von 0,1—1 mg intraventriculär und in Gaben von

[15] Dikshit, B. B.: J. Physiol. (Brit.) **80**, 409 (1934).

0,02—0,2 mg i. v. keine Wirkung auf die durch Azetylcholin bei i. c. Injektion am Atemzentrum ausgelösten Erscheinungen. Ebenso sahen Suhm Wang und Lim[16] die Wirkung des Azetylcholin auf den Blutdruck bei i. c. Injektion und bei direkter Applikation auf den Boden des 4. Ventrikels durch vorangehende Atropinisierung der Tiere nicht beeinflußt. Im Gegensatz hierzu verschwand bei einer solchen Vorbehandlung der intravenös hervorgerufene Azetylcholineffekt. Freitag und Schilf[17] beobachteten schließlich, daß die blutdrucksteigernde Wirkung großer Azetylcholingaben bei i. c. Zufuhr nach Injektion von Atropin nicht so ausgeprägt auftrat wie bei i. v. Darreichung des Azetylcholins. Die verschiedenartige Technik der Azetylcholininjektion mittels der intraventrikulären Applikation in den meisten dieser Versuche, die Anwendung andersartiger Dosierungen von Atropin und Azetylcholin und die Benutzung anderer Testobjekte für die Beurteilung der Azetylcholinwirkung lassen allerdings nur in beschränktem Umfange einen Vergleich dieser Untersuchungen mit den eigenen Ergebnissen zu. Zudem bieten u. E. die gleichlautenden Resultate in allen von uns durchgeführten Versuchsreihen eine genügende Gewähr dafür, daß es sich bei den eigenen Beobachtungen nicht um Zufallsbefunde handelt.

Pilocarpin.

Beim Pilocarpin hatte die vergleichende Austestung der unteren wirksamen Grenzdosen und der toxischen Gaben bei i. c. und i. v. Injektion keine absolut sicheren Anhaltspunkte ergeben, die eine Entscheidung zugunsten zentral gerichteter Wirkungen auf die v. Z. beim Pilocarpin mit Gewißheit erlaubten. Dagegen sprachen die Untersuchungen, die sich auf den Einfluß des Pilocarpins auf den Azetylcholingehalt des ZNS. erstreckten, für eine zentrale Wirksamkeit dieses Pharmakons bei i. c. Injektion. Auch die antagonistischen Versuche weisen auf zentrale Einflußmöglichkeiten des Pilocarpins bei i. c. Zufuhr hin. So bewirkt zunächst eine Vorbehandlung mit Paraldehyd eine weitgehende Aufhebung der Pilocarpinhyperglykämie bei i. c. Injektion. Ebenso dämpft Paraldehyd die Wirkung des Pilocarpins auf das Blutbild in einem Ausmaße, daß sich Unterschiede einwandfreier Art aufweisen lassen.

Tabelle 7. Pilocarpin.

Pilocarpin intracisternal					Nach Vorbehandlung mit Paraldehyd 300 mg/kg			
Dosis γ/Tier	Temperatur	Zucker %	Leuko. %	Neutr. %	Temperatur	Zucker %	Leuko. %	Neutr. %
50	— 0,4	+ 34,1	— 38	— 12	— 0,7	+ 12,2	— 10	— 6
100	— 0,7	+ 41,3	— 55	— 12	— 1,3	+ 11,7	— 12	— 6

[16] Suh, T. H., C. H. Wang, R. K. S. Lim: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **32**, 1410 (1935). — [17] Freitag, A., u. E. Schilf: Z. Neur. **139**, 35 (1932).

Diese Befunde stellen sich den Ergebnissen von Light und Mitarbeitern[18] an die Seite, die ebenfalls zeigen konnten, daß eine Vorbehandlung mit Narkotica weitgehend die Wirkung des Pilocarpins einschränkt, die es bei Injektion in die Hirnventrikel zur Folge hat.

Tabelle 8. Pilocarpin.

Pilocarpin intracisternal					Nach Vorbehandlung mit Atropin 1 mg/kg			
Dosis γ/Tier	Temperatur	Zucker %	Leuko. %	Neutr. %	Temperatur	Zucker %	Leuko. %	Neutr. %
100	− 0,7	+ 41,3	− 55	− 12	− 0,5	+ 31,6	− 33	− 12
		intravenös						
100	− 0,3	+ 9,9	+ 43	+ 18	− 0,8	+ 15,0	− 8	− 4
10/mg	− 0,6	+ 62,2	+ 56	+ 26	− 0,8	+ 38,3	− 5	− 8

Auch die Versuche mit Atropin und Pilocarpin lassen eine Deutung im Sinne einer zentral gerichteten Wirkung des Pilocarpins zu. Bei i. c. Injektion von Pilocarpin entfaltet Atropin keine Gegenwirkung, während bei i. v. Pilocarpinzufuhr in Übereinstimmung zu den Angaben der Literatur der Pilocarpineffekt auf Blutzucker und Blutbild durch Atropin weitgehend abgeschwächt wird. Unter Berücksichtigung der Streuung kann dieses Ergebnis der beiden Versuchsreihen nur erhärtet werden.

Im Gegensatz zu den eigenen Beobachtungen konnte Cushing[19] mit Atropin selbst bei der Injektion in das subcutane Gewebe den Effekt des intraventrikulär injizierten Pilocarpins unterdrücken. Diese Befunde finden jedoch ihre Erklärung in der andersartigen Anordnung der Versuche, auf Grund derer eine Gegenüberstellung zu den eigenen Ergebnissen entfällt. Cushing benutzte einmal zu seinen Untersuchungen wesentlich höhere Pilocarpindosen. Weiterhin verwandte er die intraventrikuläre Injektion als Zufuhrweg. Beide Faktoren schaffen aber, wie in der 1. Mitteilung ausgeführt wurde, günstige Bedingungen für das Eindringen der in die Liquorräume injizierten Substanzen in die peripheren Blutbahnen. Mit dem Vordringen in die Peripherie ist aber die Möglichkeit einer antagonistischen Einwirkung des Atropins gegeben, deren Mitbeteiligung für den Ausfall der Versuche Cushings wenigstens nicht völlig unberücksichtigt bleiben darf.

Adrenalin.

Die antagonistischen Versuche mit Adrenalin gewinnen an Bedeutung vor allem in Hinblick auf die bereits früher mitgeteilten Befunde, bei denen die von Adrenalin ausgelöste Wirkung auf den Azetylcholingehalt des ZNS. durch

[18] Light, R. U., C. C. Bishop u. L. G. Kendall: J. Pharmacol. (Am.) **47**, 37 (1933). — [19] Cushing, H.: Proc. nat. acad. Science **17**, 248 (1931).

Paraldehyd verhindert werden konnte, während eine Vorbehandlung mit Ergotamin ohne Einfluß blieb. Der Antagonismus zwischen Paraldehyd und Adrenalin erstreckte sich dabei auf den durch Adrenalin bei i. v. und i. c. Injektion hervorgerufenen Effekt. Die bei i. v. Darreichung erzielte Adrenalinwirkung auf das ZNS. konnte allerdings als sekundäre Folge eines über den Sinus carotis laufenden zentripetalen Erregungsvorganges geklärt werden.

Tabelle 9. Adrenalin.

Adrenalin intracisternal					Nach Vorbehandlung mit Paraldehyd 100 mg/kg			
Dosis γ/Tier	Temperatur	Zucker %	Leuko. %	Neutr. %	Temperatur	Zucker %	Leuko. %	Neutr. %
10	− 0,4	+ 28,3	+ 35	+ 10	− 0,3	+ 27,0	+ 14	+ 5
50	− 0,3	+ 91,9	+ 55	+ 21	− 0,5	+ 121,0	+ 26	+ 18
						300 mg/kg		
50	− 0,3	+ 91,9	+ 55	+ 21	− 0,4	+ 32,3	+ 16	+ 12
100	+ 0,6	+ 87,6	+ 56	+ 25	− 0,3	+ 31,5	+ 50	+ 29
300	+ 0,8	+ 125,1			− 0,9	+ 169,0		
		intravenös						
50	− 0,4	+ 50,3	+ 29	+ 14	− 0,6	+ 50,0	+ 24	+ 9
100	− 0,5	+ 65,4	+ 38	+ 20	− 0,7	+ 60,7	+ 27	+ 16

Entsprechend den früheren Beobachtungen mit Adrenalin wurden auch die jetzigen antagonistischen Versuche mit Paraldehyd auf eine i. v. und i. c. Applikation von Adrenalin ausgedehnt. Bei i. c. Injektion des Adrenalins kommt in den Blutzuckerwerten und im Blutstatus eine antagonistische Wirkung des Paraldehyds in einer Dosierung von 300 mg/kg gegenüber Adrenalin in Gaben von 50 γ zum Ausdruck. Bei 100 γ Adrenalin vermag Paraldehyd, wenn man die Ergebnisse der Einzelbefunde auswertet, lediglich den blutzuckersteigernden Effekt des Adrenalins zu hemmen, dagegen nicht die Änderung des Blutbildes. Bei 300 γ Adrenalin versagt Paraldehyd in jeder Hinsicht. Diese Adrenalingaben liegen allerdings in unmittelbarer Nähe der bei i. c. Injektion letal wirkenden Dosen. Bei der Dosierung von 100 mg/kg Paraldehyd fallen sämtliche Befunde in den Bereich jener Werte, die unter Adrenalin allein erzielt wurden. Eine Ausnahme bildet die Beeinflussung des Blutbildes bei alleiniger Verwendung von 10 γ Adrenalin bzw. gleichzeitiger Darreichung von 100 mg Paraldehyd zu dieser Adrenalingabe.

Bei i. v. Injektion des Adrenalins ist eine Abschwächung des Adrenalineffektes trotz gleichzeitiger Paraldehydzufuhr nicht zu erzielen. Alle Werte liegen innerhalb der Schwankungsbreite der durch Adrenalin bewirkten Änderungen von Blutzucker und Blutbild. Demnach vermag Paraldehyd peripher ausgelöste Adrenalinwirkungen nicht zu beeinflussen. Damit ist zugleich gesagt, daß der Einfluß des Paraldehyds auf die untersuchten vegetativ innervierten Funktionen ausschließlich oder wenigstens über-

wiegend zentraler Natur ist. Periphere Komponenten dürften dagegen für das Einsetzen einer Gegenwirkung des Paraldehyds gegenüber Adrenalin gänzlich unmaßgeblich oder doch bedeutungslos sein.

Tabelle 10. Adrenalin.

Adrenalin intracisternal					Nach Vorbehandlung mit Ergotamin 0,1 mg/kg			
Dosis γ/Tier	Temperatur	Zucker %	Leuko. %	Neutr. %	Temperatur	Zucker %	Leuko. %	Neutr. %
50	− 0,3	+ 91,9	+ 55	+ 21	− 0,6	+ 72,2	+ 30	+ 14
					0,25 mg/kg			
10	− 0,4	+ 28,3	+ 35	+ 10	− 0,3	+ 27,5	+ 9	+ 8
50	0,3	+ 91,9	+ 55	+ 21	− 0,7	+ 30,6	+ 19	+ 11
		intravenös				0,1 mg/kg		
50	− 0,4	+ 50,3	+ 29	+ 14	− 0,2	+ 21,0	+ 13	+ 8
						0,25 mg/kg		
50	− 0,4	+ 50,3	+ 29	+ 14	− 0,3	+ 13,5	+ 7	+ 9
100	− 0,5	+ 65,4	+ 38	+ 20	0	+ 27,0	+ 15	+ 6

Zur peripheren Blockade wurde beim Adrenalin Ergotamin benutzt. Dieses besitzt gegenüber i. v. injiziertem Adrenalin eine gute Gegenwirkung. Es wird damit lediglich eine bereits bekannte Tatsache erneut bestätigt. Bei i. c. Zufuhr des Adrenalins ist ebenfalls ein Ergotamin-Antagonismus festzustellen. Auch bei statistischer Auswertung bleibt dieser Antagonismus gewahrt. Allerdings ist die Gegenwirkung des Ergotamins wesentlich geringer als bei i. v. Zufuhr gleich hoher Adrenalindosen. Trotz Abschwächung bleibt der Adrenalineffekt, der von der Cisterne aus hervorgerufen wird, noch in gewissen Ausmaßen erhalten. Die Werte für Blutzucker und die Zahlen des Blutbildes liegen deutlich außerhalb der normalen Schwankungsbreite.

Allein betrachtet bieten somit diese Versuche mit Ergotamin-Adrenalin keine Belege einwandfreier Art für zentrale Angriffspunkte des Adrenalins bei i. c. Injektion. Sie lassen eigentlich nur die Schlußfolgerung zu, daß Adrenalin bei i. c. Zufuhr eine höhere Wirkstärke als bei der i. v. Injektion besitzt. Andererseits stellen sie sich aber auch nicht in Widerspruch zu dem Ergebnis der antagonistischen Versuche mit Paraldehyd und den früher erzielten Resultaten, die u. E. den Nachweis eines zentralen Wirkungsmechanismus des Adrenalins auf die v. Z. bei i. c. Injektion erbringen.

Ergotamin und Ergometrin.

Gegenüber Ergotamin in Dosen von 250 und 500 γ und Ergometrin in einem Dosierungsbereich von 25—50 γ erwies sich Paraldehyd in Gaben von 300 mg völlig unwirksam, wenn die Zufuhr von Ergotamin und Ergometrin über den Liquorweg erfolgte. Die in der Tabelle enthaltenen Angaben zeigen eindeutig die Wirkungslosigkeit des Paraldehyd als Antidot. Die

Ergotamin

Ergotamin intracisternal					Nach Vorbehandlung mit Paraldehyd 300 mg/kg			
Dosis γ/Tier	Temperatur	Zucker %	Leuko. %	Neutr. %	Temperatur	Zucker %	Leuko. %	Neutr. %
250	− 0,7	+ 16,4*	− 19	− 10	− 1,0	+ 19,9	− 25	− 12
500	− 0,6	+ 37,3	− 26	− 18	− 1,1	+ 31,9	− 39	− 20

Ergometrin

Ergometrin intracisternal					Nach Vorbehandlung mit Paraldehyd 300 mg/kg			
25	+ 1,2	+ 27,9	+ 24	+ 6	+ 0,6	+ 46,0	+ 25	+ 8
50	+ 1,5	+ 61,7	+ 25	+ 21	+ 0,7	+ 63,0	+ 39	+ 17

* In einem von 4 Fällen trat ein Abfall des Blutzuckerspiegels um 13,0 % ein. Dieser Versuch blieb bei der Berechnung des Mittelwertes unberücksichtigt, um eine bessere Vergleichsmöglichkeit mit den Blutzuckerwerten nach Paraldehydvorbehandlung und gleichzeitiger Zufuhr von Ergotamin zu haben, wo stets ein Anstieg des Blutzuckers beobachtet wurde.

Änderung von Temperatur, Blutzucker und Blutbild trat unter Paraldehyd in den gleichen Ausmaßen ein, wie am unvorbehandelten Tier. Somit stellen sich diese Befunde wiederum der bereits früher gewonnenen Auffassung an die Seite, nach der ein spezifisch auf die v. Z. gerichteter Einfluß dieser Pharmaca infolge Mangels an eindeutigen Beweisen fraglich bleiben muß-

Zusammenfassung.

In Bestätigung früherer Untersuchungen ergaben sich aus der Durchführung antagonistischer Versuche weitere Anhaltspunkte, die auf eine direkte Beeinflussung der vegetativen Zentren bei intracisternaler Einführung von Pikrotoxin, Pilocarpin und Adrenalin schließen lassen. Für Azetylcholin, Ergotamin und Ergometrin ist dagegen in Übereinstimmung zu dem Ergebnis früherer Versuche ein zentraler Wirkungsmechanismus in Form einer spezifisch auf die vegetativen Zentren gerichteten Wirkung mit hoher Wahrscheinlichkeit abzulehnen.

Aus der Medizinischen Universitätsklinik der Universität Breslau.
(Direktor: Prof. Dr. K. Gutzeit.)

Kohlenmonoxydvergiftung und Magensaftsekretion.

Von
G. Walther.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 13. März 1939.)

Der erste Anlaß für die vorliegenden Untersuchungen war die in einem Gutachten auftauchende Frage, ob durch eine Kohlenoxydvergiftung eine Achylie verursacht werden kann. Häufig genug tritt als Folge einer Kohlenoxydvergiftung Nausea und Erbrechen auf. Appetitlosigkeit, Brechreiz und Erbrechen können monatelang bestehen bleiben. Rückwirkungen auf die Magensekretion sind nicht von vornherein auszuschließen. Man denke an den gewaltigen Chloridverlust bei häufigem Erbrechen, an die Möglichkeit von Durchblutungsstörungen bzw. Gefäßkrämpfen oder auch an eine toxische Gastritis (Biedermann).

Im Schrifttum finden sich verhältnismäßig wenig Angaben über die Wirkung des Kohlenoxyds auf die Magenfunktionen. Die Erscheinungen am Magen-Darmkanal wie Erbrechen, Übelkeit, Durchfälle faßt man als vegetativ oder vasomotorisch bedingte Störungen auf, die zu einer Änderung der Durchblutung der Magen-Darmschleimhaut führen. Eine Gastritis soll relativ selten sein. Weder beim Menschen noch im Tierversuch wurde eine direkte Einwirkung des etwa verschluckten Gases auf die Magenschleimhaut beobachtet (Koelsch). Oft beschrieben sind Hämorrhagien, die im Bereiche des gesamten Magendarmkanals auftreten können (Litzner). Wiederholt wurden beim Menschen Ekchymosen auf der Höhe der Magenschleimhautfalten oder größere Blutsuffusionen, selbst freie blutige Massen im Magen gesehen. Reinwein erblickt die Ursache für diese Blutaustritte in einer toxischen Gefäßwandschädigung. Auch im Tierversuch sind Gefäßrupturen nicht selten (Lewin). Die Dauer der Kohlenoxydeinwirkung scheint eine Rolle für das Ausmaß der Hämorrhagien zu spielen. Wurden Hunde durch Kohlenoxyd getötet, so waren kongestive Zustände an der Magen-Darmschleimhaut zu beobachten. Die Schleimhautekchymosen waren bei langsam vergifteten oder hungernden Tieren stärker als bei schnell zugrunde gegangenen oder vorher gefütterten. Besonders zahlreich waren die Hämorrhagien im Magen-Darmkanal, wenn die Tiere von der Bauchhöhle aus vergiftet wurden (Richter).

Über das Verhalten der motorischen und sekretorischen Funktionen des Magens nach einer Kohlenoxydvergiftung ist nur sehr wenig bekannt.

Koelsch schreibt von einer ungenügenden Magensaftabsonderung. Im Tierversuch blieb der Speisebrei mehrere Stunden unverändert im Magen liegen (Lewin). Beck hat 97 Kranke mit Kohlenoxydvergiftung infolge Einatmung von Leuchtgas, Ofengasen, Autoabgasen eingehend untersucht. Die meisten hatten Magen-Darmstörungen. 16mal fand er Erbrechen und Übelkeit, 6mal Cardiospasmus, 1mal Pylorospasmus, in wenigen Fällen eine Glossitis. 2 Patienten hatten Beschwerden wie beim Vorliegen von Magengeschwüren, waren aber nach 3–4tägigem Klinikaufenthalt geheilt. Die Magensäurewerte waren nur in wenigen Fällen höher als normal, 5mal bestand eine Achlorhydrie, 19mal eine Subacidität.

Nach den Untersuchungen von Beck verdienen die Magen-Darmstörungen nach Kohlenoxydvergiftung also eine größere Beachtung als ihnen bisher zuteil ward. Ein besonderes Interesse aber bekommt die Frage, ob eine Achylie nach Kohlenoxydintoxikation entstehen kann, durch Fälle von perniciöser oder perniciosiformer Anämie, die nach häufig wiederholten, sich über lange Zeit erstreckenden Kohlenoxydvergiftungen auftraten. In 2 Fällen wurde das Gas während 4 bzw. 7 Jahren überaus häufig, zeitweise täglich, inhaliert. Beide Male waren undichte Öfen die Ursache. Nach Ausschaltung der Noxe und Injektion von Leberpräparaten wurde die Anämie rasch beseitigt. Die histaminrefraktäre Achylie aber blieb. Symanski nimmt an, daß sie schon vorher vorhanden war und vielleicht im Sinne einer individuellen Reaktionsfähigkeit das Auftreten der perniciosaähnlichen Anämie begünstigt hat. In dem von Berger und Grill geschilderten Falle bestand in den ersten Jahren der „chronischen" Kohlenoxydvergiftung saures Erbrechen, während später das Erbrochene nicht mehr sauer schmeckte und eine histaminrefraktäre Achylie nachgewiesen wurde. Die Verfasser glauben dementsprechend, daß die „chronische" Kohlenoxydvergiftung die Salzsäure- und Fermentproduktion des Magens zerstört habe, daß es zu einer atrophierenden Kohlenoxydgastritis gekommen sei. Auch Biedermann spricht von einer toxischen Kohlenoxydgastritis und nimmt an, daß die Schädigung des Castleschen Ferments durch direkte Kohlenoxydeinwirkung oder indirekt durch Störung der inneren Atmung oder vaskuläre Schädigung zustandegekommen sei. Diese Einzelbeobachtungen unterstreichen die Wichtigkeit der Frage, ob nach Kohlenoxydintoxikation eine Verminderung der Magensäureproduktion oder gar eine Achylie zu beobachten ist. Es fällt zwar bei den von Beck untersuchten Fällen auf, daß die Magensäurewerte nur selten höher, häufig niedriger als normal lagen. Von 7 eigenen Beobachtungen der letzten Zeit hatten 3 eine histaminrefraktäre Achylie, 1 subacide, 2 normale, 1 peracide Säurewerte. Wir können aber hieraus noch keine Schlüsse ziehen, da wir in den betreffenden Fällen über die Magensäurewerte vor der Vergiftung natürlich nicht unterrichtet sind.

Ich zog nun zur Klärung der Fragen Tierversuche heran. Die Fragestellungen lauteten:

1. Hat eine akute Kohlenoxydvergiftung Einfluß auf die Magensäurewerte?

2. Werden die Magensäurewerte durch wiederholte Kohlenoxydvergiftungen verändert?

3. Kommt es im chronisch-gastritisch veränderten Magen unter dem Einfluß von Kohlenoxydvergiftungen zu einer Achylie?

4. Bewirkt Kohlenoxyd eine Änderung der Magensäurewerte bei Tieren, die durch mehrfache Blutentnahmen anämisch gemacht worden waren?

5. Wie ist das feingewebliche Bild der Magenwand nach einmaliger oder zahlreichen Kohlenoxydvergiftungen kombiniert mit chronischer Allylformiatschädigung?

Methodik: Es kamen 2 Hunde und 34 Kaninchen zum Versuch. Die Tiere blieben 1—2 Tage vor der Magensaftuntersuchung nüchtern. Der Magensaft wurde nach einer Gabe von 0,1 g Coffein in 50—100 ccm Wasser mit der Sonde in $^1/_4$stündlichen Abständen $1^1/_2$ Stunden hindurch abgesaugt und die freie Salzsäure bzw. die Gesamtacidität bestimmt. Die Tiere vertrugen die Untersuchung besser in der gewohnten Bauchlage als in der unphysiologischen Rückenlage. Wenn es gelingt, die Sonde durch die Nase einzuführen, braucht der Kopf nicht besonders fixiert zu werden. Sonst wird die Schnauze durch einen abgerundeten Holzstab offengehalten und der Schlauch durch eine Durchbohrung des Holzes eingeführt. Das Holz muß am Kopfe festgebunden werden. Die Sonde ist nicht allzu dick zu wählen, da dies zu plötzlich auftretenden Atmungs- und Kreislaufstörungen Anlaß geben kann, die wahrscheinlich durch Überdehnung des Oesophagus reflektorisch ausgelöst werden. Ein allzu kleines Sondenkaliber empfiehlt sich nicht, da auch nach 2tägigem Fasten reichlich Speisebrei im Kaninchenmagen vorhanden ist und das Absaugen von Magensaft erschwert. Die fraktionierten Magensaftausheberungen wurden vor und sofort nach einer Kohlenoxydvergiftung oder einige Stunden danach vorgenommen. Die Vergiftung der Tiere mit Kohlenoxyd bzw. Leuchtgas erfolgte in einem Metallkasten, auf den ein Metalldeckel mit Überfang und Schauglas luftdicht aufgeschraubt wurde. Das Gas wurde durch einen Absperrhahn in den Kasten geleitet. Die Menge des zugeführten Gases wurde vorher durch Wasserverdrängung gemessen. Die zur Wirkung kommende Konzentration des Kohlenoxyds betrug 0,5—1,0%. Ein Teil der Tiere wurde mit Leuchtgas, ein anderer mit Kohlenoxyd vergiftet, das aus Oxalsäure und konzentrierter Schwefelsäure gewonnen wurde. Die Tiere blieben so lange in dem gasgefüllten Kasten, bis die Beobachtung durch das Schauglas deutliche Vergiftungssymptome erkennen ließ: Seitenlage, Fehlen von Stell- und Greifreflexen beim Drehen und Kanten des Glaskastens, Urin- und Kotabgang. Dies trat meist nach 15—30 Min.

ein. Dann wurden die Tiere herausgenommen. Sie boten sämtlich ein weiteres Zeichen von Intoxikation: Sie zogen die passiv nach hinten überstreckten Hinterpfoten nicht wieder an den Körper, sondern blieben in ausgestreckter Stellung liegen. Normale Tiere ziehen demgegenüber die passiv nach hinten gebrachte Hinterpfote sofort wieder an den Körper. Ein Teil der Tiere bekam Krämpfe, einige starben nach einigen Stunden an den Folgen der Kohlenoxydvergiftung. Die Vergiftungen waren also durchweg mindestens mittelschwer. Einige Male mußte ein Atemstillstand durch künstliche Atmung beseitigt werden. Von 26 Tieren, die 1—7mal mit Kohlenoxyd bzw. Leuchtgas vergiftet worden waren, starben 15 kurze Zeit oder einige Stunden nach der Vergiftung. Bei mehreren Tieren mag auch die längere Fixierung in Rückenlage kreislaufschädigend gewirkt haben. Es wurde aus diesen Erwägungen heraus die fraktionierte Ausheberung in Bauchlage vorgenommen und offenbar besser vertragen. Im Beginn der Versuchsreihen kann die Benutzung zu dicker Sonden bei einigen Tieren durch Überdehnung des Oesophagus zu reflektorischem Herzstillstand geführt haben. Deswegen wurden später dünnere Sonden bis zu einem Durchmesser von 3 mm angewandt.

Ergebnisse.

Vorversuche an Hunden ergaben bei einem Tier zweimal an- bzw. subazide Säurewerte. Bei einem zweiten Tier waren die Maximalwerte für Gesamtazidität bzw. freie Salzsäure in den Kontrollversuchen + 90/+ 70 und + 95/+ 45. Eine akute, schwere Kohlenoxydvergiftung führte zu einem Atemstillstand, der durch künstliche Atmung behoben werden konnte. Eine halbe Stunde später zeigte die fraktionierte Ausheberung eine Senkung der Magensäurewerte auf maximal + 70/+ 14. Die stark wechselnden Säurewerte, die mitunter schon in den Kontrollversuchen beobachtete Anazidität ließ Hunde als Versuchstiere ungeeignet erscheinen. Beim Kaninchen dagegen waren in zahlreichen Vorversuchen die Säurewerte verhältnismäßig konstant und immer recht hoch. Sie betrugen nie weniger als + 80/+ 50, meist lagen sie höher. Der Höchstwert war + 180/+ 100. Im Verlaufe der Untersuchungen erwies es sich als gleichgültig, ob die Magensaftausheberung sofort an die Vergiftung angeschlossen wurde, oder einige Stunden später erfolgte. Es sei vorweg genommen, daß eine Anacidität in keinem einzigen Falle beobachtet wurde. Bei Tieren, die starben, bevor eine fraktionierte Ausheberung durchgeführt werden konnte, wurde wenigstens der Magensaft durch Kongorotpapier auf das Vorhandensein freier Salzsäure geprüft: sie war in jedem Falle nachzuweisen. Nach 1—7maliger Kohlenoxydvergiftung erfuhr die Magensäurekurve im Vergleich zu den vorhergegangenen Kontrolluntersuchungen folgende Veränderung: sie erwies sich bei 3 Kaninchen in insgesamt 5 Untersuchungen als deutlich erhöht, blieb bei 6 Tieren mit insgesamt 9 Untersuchungen un-

verändert und wurde bei 1 Kaninchen erniedrigt. Die Tabelle gibt einen Überblick über die Säurewerte und zugleich über den Verlauf der Säuresekretion.

Tabelle 1.

Nr.		15 Min.	30 Min.	45 Min.	60 Min.	75 Min.	90 Min.	105 Min.
3	Vorversuche	+20/+34	**50/78**	43/73	38/54	33/60	43/65	48/73
		+ 8/16	40/54	**44/70**	44/70	46/69	48/68	—
	Sofort nach CO-Vergiftung	+ 5/+ 8	28/46	32/51	**66/108**	50/62	56/82	—
	1 Tag nach CO-Vergiftung	+ 3/+ 7	**72/109**	51/76	Ex. let.	—	—	—
13	Vorversuch	— 5/0	+38 48	52/64	52/58	60/74	**60/76**	—
	Sofort nach CO-Vergiftung	+10/+25	65/85	**90/130**	Ex. let.	—	—	—
19	Vorversuch	+16/+20	42/49	40/52	40/54	**36/76**	30/62	
	Sofort nach CO-Vergiftung	+24/+39	64/120	**90/160**	94/118	82/128	110/126	—
	4 Tage nach CO-Vergiftung	+ 6/+14	42/68	56/96	**70/107**	58/94	47/80	—
24	Vorversuch	+ 4/+ 8	60/110	80/134	70/110	100/134	**94/160**	—
	Sofort nach CO-Vergiftung	+10/+18	26/41	40/80	**36/102**	38/86	32/78	—

Maximalwerte in Fettdruck.

In einzelnen Fällen trat das Maximum der Säuresekretion nach der Vergiftung etwas später auf als vorher, bei anderen war das Gegenteil der Fall. Ein regelmäßiges Verhalten war nicht zu beobachten. Von einer nennenswerten Änderung des Kurventyps kann ebenfalls nicht die Rede sein. Auffällig war, daß die Differenz zwischen freier Säure und Gesamtacidität sich nach der Intoxikation bei 8 Tieren vergrößerte, bei einem unverändert blieb und bei einem weiteren Tier kleiner wurde. Die Erklärung hierfür ist wohl in einer gesteigerten Schleimabsonderung oder auch in Blutaustritten nach der Kohlenoxydvergiftung zu sehen.

Die Frage nach der Wirkung häufig wiederholter Kohlenoxydvergiftungen bei bestehender chronischer Gastritis wurde auf folgende Weise angegangen: 6 Kaninchen bekamen jeden 2. Tag 5 mg Allylformiat pro kg Körpergewicht subcutan. Die Gesamtdosis betrug 150 mg/kg Körpergewicht. In dieser Dosierung führte Allylformiat nicht zu den von Eppinger für die chronische Allylformiatvergiftung beschriebenen Allgemeinschädigungen. Die Tiere nahmen sogar an Gewicht zu. Trotzdem genügte die Allylformiatwirkung aber zur Erzeugung chronisch-entzündlicher Veränderungen in der Magenschleimhaut. Bei der Beschreibung der histologischen Befunde wird näher darauf einzugehen sein. Gleichzeitig wurden die Tiere 3mal wöchentlich und insgesamt 33—37mal

mit Kohlenoxyd bzw. Leuchtgas vergiftet. Der Versuch zog sich also über 3 – 4 Monate hin. Nach Ablauf dieser Zeit ergab die fraktionierte Magensaftausheberung bei 2 Tieren hohe Säurewerte (maximal + 100/ + 156 und + 76/ + 98). Bei einem Tier hielten sich die Säurewerte in mittleren Grenzen. Die restlichen 3 Tiere zeigten mit maximal + 18/32, + 10/28, + 32/56 niedrigere Werte als normalerweise bei Kaninchen zu beobachten waren. Da eine Untersuchung des Magensaftes vor den Vergiftungen aber nicht stattfand, kann nicht beurteilt werden, ob die Säuresekretion durch die Intoxikation verringert wurde. Sicher ist aber — und das war die eingangs gestellte Frage —, daß eine Anacidität in keinem Falle zur Beobachtung kam.

Damit ist aber noch keineswegs ausgeschlossen, daß nicht eine Kombination von Kohlenoxyd mit irgendeiner anderen Noxe einen Abfall der Magensekretion bewirken könne. Sleeth und van Liere fanden eine Verringerung der Säure- und Chlorsekretion bei anämischer Anoxämie. Von dieser Beobachtung ausgehend untersuchte ich die Magensäuresekretion an 2 Kaninchen, die durch chronische Allylformiatvergiftung, durch eine sekundäre Anämie und durch Leuchtgasinhalationen geschädigt wurden. Im Verlaufe von $3^1/_2$ Monaten ließ ich die Tiere zunächst 35mal mit Leuchtgas vergiften. Gleichzeitig wurde Allylformiat in der oben beschriebenen Dosierung verabfolgt. 13 Blutentnahmen von je 20 ccm und eine weitere von 50 ccm führten nach 5 Wochen zu einer Anämie von 44 bzw. 50% Hämoglobin. Nach einer neuerlichen Leuchtgasvergiftung wurde der Magensaft titriert. Die Säurewerte waren bei den beiden Tieren nicht erniedrigt. Die Kombination einer einfachen sekundären Blutungsanämie mit Leuchtgasintoxikationen hatte bei Vorliegen chronischer Gastritiden also keinen Abfall der Magensäuresekretion zur Folge. Versuche mit toxisch erzeugten Anämien könnten aussichtsreicher erscheinen, sind aber wegen der Nebenwirkungen der betreffenden Gifte – direkte Einwirkung auf die Magensekretion, den Chlorhaushalt usf. – schwieriger zu deuten.

Den Abschluß der Untersuchungen stellte die Auswertung der makroskopischen und mikroskopischen Befunde der Magenwand dar. Von 24 Tieren hatten 15 bereits makroskopisch erkennbare kleine und größere Hämorrhagien in der Magenschleimhaut, besonders auf den Kämmen der Falten. Bei einigen Tieren fanden sich nur einzelne Blutaustritte, bei anderen eine größere Anzahl. Sie scheinen im Fornix seltener zu sein als im Corpus und Antrum. Sonst konnte eine Bevorzugung bestimmter Magengebiete nicht festgestellt werden. Nicht vergiftete Tiere, die während einer fraktionierten Ausheberung starben, zeigten keine Blutungen in der Schleimhaut.

Für die feingewebliche Untersuchung konnten die meisten Mägen lebenswarm in Formalin eingelegt werden. Einige Tiere starben in der Nacht nach der Kohlenoxydvergiftung. Diese Mägen konnten daher

erst mit mehrstündiger Verspätung fixiert werden, zeigten also postmortale Veränderungen. Wie nach dem makroskopischen Befund zu erwarten war, ließen sich bei der überwiegenden Zahl der akut vergifteten Tiere hämorrhagische Erosionen mit leukocytärer Begrenzung nachweisen.

Die Hämorrhagien waren zum Teil in die oberen Schichten der Mukosa erfolgt, gingen zum Teil aber auch von der Submukosa aus. Das ausgetretene Blut hatte die Drüsenschläuche auseinandergedrängt oder die Drüsenstruktur völlig zerstört. Das Gewebe in der Umgebung solcher Blutungen war entzündlich-ödematös durchtränkt, das Epithel der Leistenspitzen durch ein Erythrocyten und Leukocyten enthaltendes Ödem abgehoben (Abb. 1). Leistenspitzenödeme und leichte entzündlich-ödematöse Durchtränkung der oberen Mukosaschichten wie auch leichte bis mäßig starke Hyperämie waren häufig zu sehen.

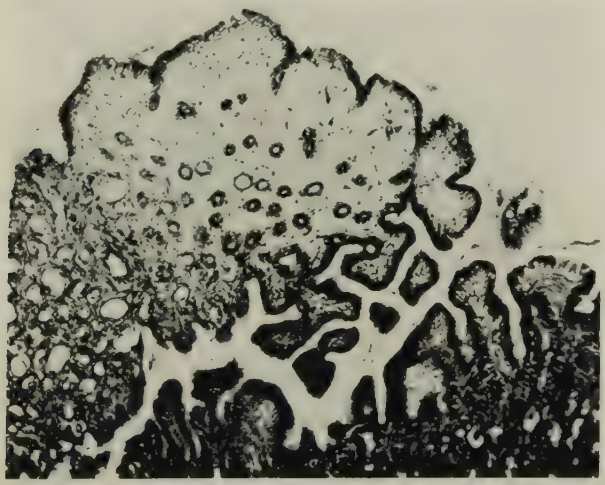


Abb. 1. Leistenspitzenödem nach akuter Kohlenoxydvergiftung.

Ferner fanden sich Nekrosen mit leukocytärer Begrenzung, ohne daß Blutungen in der Umgebung nachgewiesen werden konnten. Etwas seltener waren leukocytäre, eosinophile und polymorphkernige Zellen enthaltende Infiltrationen der Mukosa und Submukosa. Die beschriebenen Veränderungen erstreckten sich aber niemals über die ganze Magenschleimhaut hinweg, sondern blieben auf kleine, umschriebene Bezirke beschränkt. Nach ein- oder mehrmaliger Kohlenoxydvergiftung treten also nicht diffuse, sondern lokalisierte Veränderungen der Magenschleimhaut in Form hämorrhagischer Erosionen oder entzündlicher Prozesse auf.

Ein anderes Bild boten die Tiere, die häufig mit Allylformiat und Kohlenoxyd vergiftet worden waren. 2 Mägen wurden wegen postmortaler Veränderungen von der Beurteilung ausgeschlossen. Bei den übrigen 6 waren als Folge der letzten, kurze Zeit zurückliegenden Intoxi-

kationen natürlich hämorrhagische Erosionen und Leistenspitzenödeme zu sehen. Bemerkenswert war aber eine gewisse Unregelmäßigkeit des

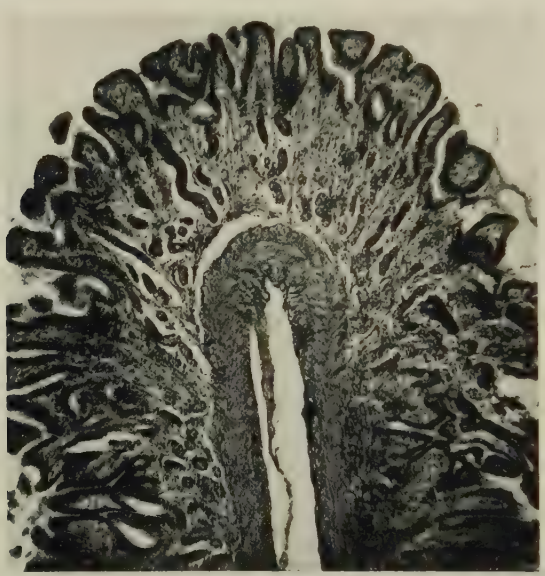


Abb. 2. Chronisch-gastritische Veränderungen nach chronischer Allylformiatvergiftung kombiniert mit häufigen Kohlenoxydvergiftungen. Bindegewebs- und leichte Zellvermehrung. Unregelmäßiges Drüsenbild, korkzieherartig gewundene Drüsenschläuche.

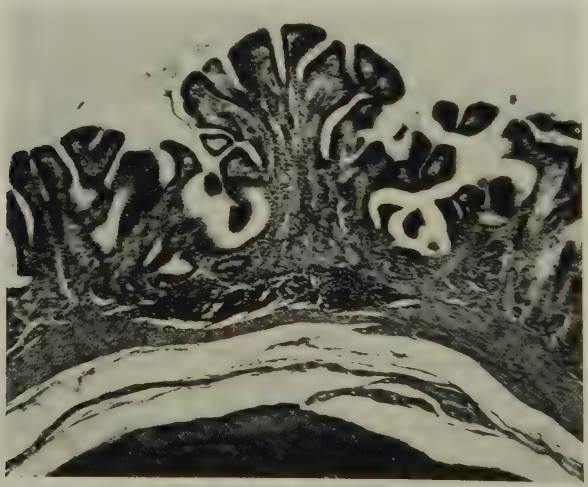


Abb. 3. Chronisch-gastritische Veränderungen nach chronischer Allylformiatvergiftung kombiniert mit häufigen Kohlenoxydvergiftungen. Atrophisch-hyperplastische Gastritis. Pilzförmige Hypertrophie. Bindegewebs- und Zellvermehrung. Abflachung der Mukosa.

Drüsenbildes. Die Drüsenschläuche waren zum Teil korkzieherartig gewunden oder fächerartig gespreizt (Abb. 2). Die Mukosa war ungleich hoch,

das mikroskopische Bild ähnelte dem état mamelloné (Abb. 3). Es fand sich eine leichte Bindegewebsvermehrung in der Mukosa und stellenweise Spitzenhyperplasie. In einem Falle waren im Antrum verhältnismäßig ausgedehnte Veränderungen des Drüsenepithels im Sinne der indifferenten Epithelien nach Moczkowicz nachzuweisen. Bei 2 von 6 Tieren konnte ich einzelne rundliche, cystische Erweiterungen der Drüsen feststellen. In einem Falle waren die Cysten sogar verhältnismäßig zahlreich. Die Cystenwand war mit hohem oder abgeplattetem Zylinderepithel besetzt. Ob es sich hier um Folgezustände abgelaufener Entzündungen und Epitheldegenerationen handelt, ist nicht sicher, da die Umgebung dieser Cysten keine Zeichen einer abgelaufenen Entzündung aufwies. — Das gesamte Gewebsbild ist als Ausdruck chronisch-gastritischer Prozesse zu deuten, die umschriebene Teile der Magenschleimhaut, vielleicht unter Bevorzugung des Antrumgebietes, betrafen. Die Veränderungen dürften wohl vorwiegend auf die chronische Allylformiatvergiftung zurückzuführen sein, von der Eppinger ähnliche Wirkungen auf die Magenschleimhaut beschrieb. Die Möglichkeit, daß Kohlenoxyd allein bei sehr häufig wiederholten Vergiftungen zu derartigen Bildern führen kann, ist gegeben, wirkt es doch — wenn auch wohl in anderer Weise als das Allylformiat — ebenfalls schädigend auf die Kapillaren. Zudem kommt es nach Kohlenoxydvergiftung wie nach Allylformiatvergiftung zu hämorrhagischen Erosionen, Leistenspitzenödem usf. Nach schweren, akuten Allylformiatintoxikationen tritt allerdings eine schwere diffuse Gastritis auf, die für die Kohlenoxydvergiftung in dieser Form nicht bekannt ist.

Folgerungen.

Einmalige oder wiederholte Kohlenoxydvergiftungen des Kaninchens haben also keine gröberen Änderungen der Säuresekretion zur Folge. In einzelnen Fällen werden die Säurewerte gesteigert, seltener vermindert. Anscheinend wird vermehrt Schleim abgesondert. Die histologische Untersuchung deckt hämorrhagische Erosionen und lokalisierte entzündliche Reaktionen vorwiegend in der Mukosa auf. Man kann einwenden, daß es beim Kaninchen verhältnismäßig leicht zu Gastritiden und hämorrhagischen Erosionen kommt. Beispielsweise tritt dies nach brüskem Futterwechsel oder unzuträglichem Futter auf (Seifried). Die Versuchstiere bekamen aber ein gleichmäßig zusammengesetztes Futter. Außerdem zeigten die Kontrolltiere keine hämorrhagischen Erosionen, auch nicht nach 1- bis 2tägigem Hungern. Schließlich sind die sog. spontanen hämorrhagischen Erosionen und Gastritiden bei Kaninchen zwar keine Seltenheit, aber doch keineswegs ein regelmäßiges Vorkommnis. - Auch der Mensch neigt zu Gastritiden und hämorrhagischen Erosionen. Wenn man aus unseren Untersuchungen mit der gebotenen Vorsicht Rückschlüsse auf die Verhältnisse beim Menschen ziehen will, so erscheint das Kaninchen gerade wegen

seiner Disposition für Erosionen und Gastritiden für diese Versuche geeignet. Andererseits ist es doch recht resistent gegen Kohlenoxydvergiftungen (Boedicker). Zudem kann es als Nagetier nicht, oder nur in seltenen Ausnahmefällen, erbrechen. Die Folgen, die beim Menschen durch gehäuftes Erbrechen auftreten, können sich beim Kaninchen also nicht einstellen. So könnte man denken, daß die im Tierversuch gefundenen Veränderungen ein Minimum dessen darstellen, was man beim Menschen erwarten darf. Mindestens kann man aber damit rechnen, daß auch beim Menschen herdförmige, akute gastritische Veränderungen die Folge von Kohlenoxydintoxikationen sein können. Eine individuelle Bereitschaft oder das Hinzutreten anderer Noxen mögen für die Auslösung einer Gastritis bei Menschen eine Rolle spielen. Beck beschreibt bei 97 Kohlenoxydvergifteten in 25 Fällen Magenbeschwerden, davon 16mal Erbrechen. Die Durchsicht der Krankengeschichten von 50 Kohlenoxydvergifteten, die in der Medizinischen Universitätsklinik Breslau aufgenommen waren, ergab in 15 Fällen Magenbeschwerden, davon 11mal Erbrechen. Wie weit dies von zentral-nervösen Veränderungen abhängig war, wie weit eine individuelle Disposition zu Störungen der Magenfunktionen und zu gastritischen Veränderungen vorlag, sei dahingestellt.

Hier schließt sich die Frage nach der Wirkung wiederholter Kohlenoxydintoxikationen bei bestehender chronischer Gastritis an. Dieses Leiden ist bei Menschen ja verhältnismäßig häufig und die Frage, ob bei bereits vorliegender Schädigung der Magenschleimhaut die zusätzliche Noxe von Kohlenoxydvergiftungen schwerere Folgen hinterläßt, ist also nicht nur berechtigt, sondern für pathogenetische Betrachtungen wie für rein praktische gutachtliche Belange von einiger Bedeutung. Die chronische Allylformiatvergiftung führte bei Kaninchen zu deutlichen herdförmigen chronisch-gastritischen Prozessen, zum Teil auch atrophischen Charakters. Nach zahlreichen Kohlenoxydvergiftungen wurde von einzelnen Tieren mit derartig geschädigten Mägen zwar relativ wenig Salzsäure produziert, eine Anazidität wurde aber nicht beobachtet. Selbst eine zusätzliche Schädigung durch sekundäre Anämie hatte keine nennenswerte Änderung der Säuresekretion beim Kaninchen zur Folge.

Es gelang also unter verschiedenartigen Bedingungen nicht, beim Kaninchen durch Kohlenoxydvergiftung eine Anazidität oder eine regelmäßig auftretende Erniedrigung der Aziditätskurve zu erzielen. Diese Feststellung gilt zunächst nur für das Kaninchen. Die Frage, ob die Kohlenoxydvergiftung beim Menschen zu Störungen der Magensäuresekretion führen kann, ist mit genügender Sicherheit nur durch Magensaftuntersuchungen bei solchen Kranken zu beantworten, von denen zufällig das Ergebnis einer fraktionierten Ausheberung vor einer Vergiftung vorliegt. Ebenso wichtig ist das Fahnden nach Veränderungen der Magensekretion und des röntgenologischen, gastroskopischen und gegebenenfalls auch histologischen Magenschleimhautbildes nach sog. chronischen oder gehäuften

akuten Vergiftungen. Es darf daher abschließend auf die Wichtigkeit planmäßiger Untersuchung etwa zur Beobachtung gelangender Einzelfälle hingewiesen werden.

Zusammenfassung.

Die Untersuchungen über die Magensäuresekretion bei Kaninchen nach einmaliger akuter oder häufigen Kohlenoxydvergiftungen hatten folgendes Ergebnis:

1. 1—7malige Kohlenoxydvergiftungen ließen die Magensäurewerte meist unverändert, führten einige Male zu einer Steigerung, seltener zu einer Senkung der Magensäurekurve. Der Kurventyp wird nicht geändert, die Schleimabsonderung offenbar etwas gesteigert.

2. Eine Anazidität war weder nach einmaliger, noch nach häufig wiederholten Kohlenoxydvergiftungen zu beobachten.

3. Der feingewebliche Befund zeigte bei akuten Vergiftungen: hämorrhagische Erosionen mit leukocytärer Begrenzung, Leistenspitzenödem, Hyperämie, leichte entzündlich-ödematöse Durchtränkung der oberen Mukosaschichten, Nekrosen und leukocytäre Infiltrationen in der Mukosa.

4. Bei Tieren mit kombinierter chronischer Allylformiat- und zahlreichen Kohlenoxydvergiftungen fanden sich in einzelnen Fällen niedrige Säurewerte. Eine Anazidität wurde aber in keinem Falle festgestellt.

5. Histologisch zeigte sich nach diesen über 3—4 Monate dauernden kombinierten Allylformiat-Kohlenoxydvergiftungen: Bindegewebsvermehrung in der Mukosa, Spitzenhyperplasie, état mamelloné, Unregelmäßigkeiten des Drüsenbildes. Die Veränderungen entsprachen dem Bilde der atrophisch-hyperplastischen Gastritis. Sie erstreckten sich nicht auf den ganzen Magen, sondern nur auf umschriebene Bezirke. Im Antrum waren Epithelveränderungen im Sinne der indifferenten Epithelien nach Moczkowicz zu beobachten. Alle diese Veränderungen dürften vorwiegend auf die chronische Allylformiatvergiftung zurückzuführen sein. Die Möglichkeit, daß Kohlenoxyd allein ähnliche Prozesse verursachen kann, wird diskutiert.

6. Kohlenoxyd bewirkt bei sekundäranämischen Tieren keine Änderung der Magensäuresekretion.

Literatur.

Beck: J. amer. med. Assoc. **107**, 1025 (1936). — Bock: Handb. d. exp. Pharmakol. 1923. I. Das Kohlenoxyd. — Berger u. Grill: Fol. haemat. (D.) **54**, 398 (1936). — Biedermann, Ebenda **61**, 186 (1938). — Boedicker: Arch. Hyg. (D). **109**, 124 (1932). — Eppinger: Die seröse Entzündung. — Koelsch: Handbuch der Berufskrankheiten. — Lewin: Die Kohlenoxydvergiftung 1920. — Litzner: Erg. ges. Med. **14**, 554 (1930). — Richter: Dtsch. med. Wschr. **1895**, S. 516. — Seifried: Die Krankheiten des Kaninchens. — Sleeth u. van Liere: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **36**, 208 (1937). — Symanski, Slg. Vergift.fälle. **9**, 75 (1938).

Aus der 1. Medizinischen Klinik der Universität Berlin.
(Direktor: Prof. Dr. R. Siebeck.)

Blutdruckversuche mit Adrenalin und Azetylcholin*.

Von

W. Riechert und **E. Schipkus.**

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 2. März 1939.)

Die vorliegende Arbeit befaßt sich mit der Fragestellung, ob die Adrenalinwirkung durch Azetylcholin beeinflußbar ist, und in welchem Maße die Wirkungsdauer des Adrenalins durch Azetylcholin verkürzt werden kann.

Außerdem wird eine Versuchsanordnung angegeben, die beweisen soll, daß für den schnellen Anstieg des Blutdruckes nach Dauerinfusionen von Azetylcholin im Konzentrationsbereich von $1-100\,\gamma$ pro Minute das kompensatorisch ausgeschüttete Adrenalin verantwortlich zu machen ist.

Methodik.

Die Versuche wurden an Katzen durchgeführt, die mit Chloralose und Urethan narkotisiert waren (0,075 g Chloralose + 0,25 g Urethan pro kg Tier). Als Versuchsanordnung diente das Prinzip der Trendelenburgschen Gegeninfusion. Die Dauerinfusionen von Azetylcholin wurden mit einer Dauerinfusionspumpe ausgeführt.

Nach der Narkose wurde eine Vena femoralis freigelegt und eine mit einem Bernhardtschen Hahn verschlossene Venenkanüle eingebunden, ebenso eine zweite in eine Vena jugularis. Unter möglichster Schonung des Nervus vagus wurde dann auf der anderen Seite die Carotis freigelegt, zentral abgeklemmt, eine Arterienglaskanüle eingebunden und diese nach Füllung mit Natrium-citricum-Lösung mit dem Schlauchsystem der Trendelenburgschen Versuchsanordnung verbunden.

Einleitung.

Nach den Versuchen von Feldberg und Minz ist es eine bekannte Tatsache, daß nach Injektionen von großen Dosen Azetylcholin kompensatorisch Adrenalin aus den Nebennieren ausgeschüttet wird. Erfahrungsgemäß kommt bei kleinen Azetylcholindosen nur die blutdrucksenkende Wirkung im Tierversuch zum Ausdruck. Bei großen Dosen ist dagegen zu beobachten, daß anschließend an die Blutdrucksenkung eine Blutdrucksteigerung stattfindet.

* D 11.

Beide Autoren haben verschiedene Beweisgründe angeführt, um ihre Anschauung zu festigen. Wenn die Nebennieren als Produzenten des Adrenalins aus dem Organismus entfernt werden, so muß nach entsprechenden Versuchen die Blutdrucksteigerung nach der Senkung ausbleiben; obwohl dies zwar nicht immer beobachtet werden konnte, war doch konstant eine Abschwächung der blutdrucksteigernden Wirkung großer Azetylcholindosen vorhanden. Ferner kann die Umkehrung der Adrenalinwirkung nach Gynergenisierung des Tieres als ein weiterer Beweis herangezogen werden. Da am gynergenisierten Tier die Blutdrucksteigerung nach großen Azetylcholindosen genau wie diejenige nach Adrenalininjektionen in eine Senkung umgewandelt wird, so kann aller Wahrscheinlichkeit nach diese blutdrucksteigernde Wirkung großer Azetylcholindosen auf eine kompensatorische Adrenalinausschüttung zurückgeführt werden.

Gegenüber dieser Annahme, daß Azetylcholin in großen Dosen einen direkten Reiz auf die Nebennieren ausübt, bleibt die Frage zu beantworten, ob Azetylcholin nicht doch eine zentrale Wirkung hat oder auch an den sympathischen Ganglien angreift. Die Tatsache, daß durch verhältnismäßig geringe Dosen von Azetylcholin, die direkt in das Nebennierenmark injiziert werden, eine ausgesprochene sympathische Wirkung hervorgerufen wird, macht die erste Annahme wahrscheinlich. Auch Dale nimmt einen spezifischen Reiz des Azetylcholins und anderer Ammoniumbasen auf die chromaffinen Zellen des Nebennierenmarks an.

In ihrer ersten Arbeit führen Feldberg und Minz die blutdrucksteigernde Wirkung großer Azetylcholindosen eindeutig auf einen direkten Reiz des Azetylcholins auf die Nebenniere zurück und schalten eine zentrale sowie eine direkte Wirkung auf die sympathischen Ganglien aus. Dale und seine Mitarbeiter dagegen glauben an einen direkten Einfluß auf die sympathischen Ganglien, was Feldberg und Minz in einer zweiten Arbeit bestätigen mußten. Betupfen der sympathischen Ganglien (Ganglion stellatum und coeliacum) mit einer hochkonzentrierten Azetylcholinlösung bewirkt ebenfalls eine Blutdrucksteigerung, die ausbleibt, wenn die Ganglien mit Nikotin gelähmt werden.

Gremels hat nun durch intraarterielle Dauerinfusionen kleinster Azetylcholinmengen, die noch keine periphere Allgemeinwirkung auslösen, versucht, eine Wirkung auf das Zentralnervensystem bzw. auf das Vaguszentrum zu erzielen. Je stärker der Vagus durch Azetylcholin gereizt wurde, um so kleiner war die benötigte Milliampèrezahl, die eine Blutdrucksenkung verursachte. Nach Aufhören der Azetylcholinzufuhr hatten erst viel höhere Milliampèrezahlen die gleiche Wirkung. Die Differenz zwischen beiden gibt Gremels als elektrische Zusatzerregung an. Bei erhöhter Erregbarkeit des Vaguszentrums wird mehr Azetylcholin gebildet, um das notwendige Konzentrationspotential von Azetylcholin zu erreichen. Die vermehrte Azetylcholinbildung hängt von der jeweiligen Stärke der nervösen Impulse ab. Durch die Bestimmung der Größe der Zusatz-

erregung kann man also einen Schluß auf den Tätigkeitszustand des Vaguszentrums ziehen. So ist es möglich, mit noch nicht auf die Peripherie wirkenden Azetylcholinkonzentrationen eine Steigerung der Erregbarkeit des Vaguszentrums zu erreichen. Aus dieser Arbeit geht eindeutig hervor, daß Azetylcholin eine zentrale Wirkung hat.

Versuchsergebnisse.

I.

Der erste Teil der Versuche befaßt sich mit der Beeinflußbarkeit der Adrenalinwirkung durch Azetylcholin in bezug auf seine Wirkungsintensität und Wirkungsdauer. Zu diesem Zwecke wurden mehrere Einzelinjektionen von $^1/_{16000}$ g Adrenalin durchgeführt. Es hat sich gezeigt, daß die Wirkungsdauer dieser Dosis durchschnittlich 5 Minuten beträgt. Der Blutdruck steigt innerhalb einiger Sekunden bis zu seinem höchsten Wert an und fällt dann allmählich zur Norm ab. Diese Verhältnisse gibt Tabelle 1 an.

Tabelle 1.

Adrenalinkonzentration	Dauer der Wirkung	Adrenalinkonzentration	Dauer der Wirkung
$^1/_{16}$ der Stammlösung	5 Min. 6 Sek.	$^1/_{16}$ der Stammlösung	4 Min. 32 Sek.
$^1/_{16}$ „ „	4 „ 48 „	$^1/_{25}$ „ „	5 „ 24 „
$^1/_{16}$ „ „	4 „ 47 „	$^1/_{200}$ „ „	4 „ 24 „

Während der Wirkungsdauer des Adrenalins wurden nun Einzelinjektionen von Azetylcholin erstens im Zeitpunkt des Blutdruckanstiegs und zweitens im Zeitpunkt des Blutdruckabfalls gegeben. Es sollte festgestellt werden, ob ein Unterschied in der Beeinflußbarkeit der Adrenalinwirkung durch die zeitliche Variation der Aztylcholininjektionen besteht.

Bei der ersten Injektion wurde 13 Sekunden nach der Adrenalininjektion, d. h. im Anstieg des Blutdruckes, 5 γ Azetylcholin gespritzt. Die Wirkungsdauer des Adrenalins konnte auf 1 Minute und 53 Sekunden herabgesetzt werden. Bei einer zweiten Injektion von 5 γ Azetylcholin nach 14 Sekunden betrug die Wirkungsdauer des Adrenalins 2 Minuten und 19 Sekunden. Die dritte Injektion von 5 γ Azetylcholin wurde 20 Sekunden nach der Adrenalingabe, d. h. auf dem Gipfel der Blutdruckkurve gegeben; hier betrug die Wirkungsdauer 3 Minuten und 26 Sekunden. Befindet sich dagegen der Blutdruck auf dem absteigenden Schenkel, so konnte durch Azetylcholin nur eine Blutdrucksenkung, aber keine Verkürzung der Adrenalinwirkung erzielt werden (Tabelle 2).

In zwei weiteren Versuchen wurden geringere Azetylcholinmengen angewandt. Es wurden in einem Versuch 8, in einem anderen 12 Sekunden nach der Adrenalininjektion $^1/_{10}$ γ bzw. 1 γ Azetylcholin gespritzt; in beiden Fällen war eine Verkürzung der Wirkungszeit des Adrenalins zu konstatieren. Sie betrug bei $^1/_{10}$ γ Azetylcholin 3 Minuten und 45 Sekunden, bei 1 γ Azetylcholin 2 Minuten und 7 Sekunden (Tabelle 2).

Die gleiche Versuchsreihe wurde mit 50 γ Azetylcholin durchgeführt. Wurde diese Dosis 32 Sekunden nach der Adrenalingabe injiziert, so betrug die Wirkungsdauer 2 Minuten und 36 Sekunden; applizierte man sie nach einer längeren Zeit (2 Minuten und 24 Sekunden), so betrug die Wirkungsdauer dagegen 4 Minuten und 12 Sekunden.

Auch mit einer Dosis von 100 γ Azetylcholin konnte festgestellt werden, daß die Dauer der Adrenalinwirkung um so stärker herabgesetzt wird, je früher die Azetylcholingabe der Adrenalininjektion folgt (diese Verhältnisse werden in Tabelle 2 angegeben).

Tabelle 2.

Adrenalinkonzentration	Azetylcholinkonzentration	Zeit der Azetylcholininjektion nach der Adrenalingabe	Dauer der Adrenalinwirkung
$^1/_{16}$ der Stammlösung	$^1/_{10}$ γ	8 Sek.	3 Min. 45 Sek.
$^1/_{16}$ „ „	1	12 „	2 „ 7 „
$^1/_{16}$ „ „	5	12 „	1 „ 53 „
$^1/_{16}$ „ „	5	14 „	2 „ 19 „
$^1/_{16}$ „ „	5	20 „	3 „ 26 „
$^1/_{16}$ „ „	5	33 „	3 „ 36 „
$^1/_{16}$ „ „	5	77 „	7 „ 21 „
$^1/_{16}$ „ „	10	45 „	3 „ 58 „
$^1/_{16}$ „ „	20	66 „	6 „ 4 „
$^1/_{16}$ „ „	50	32 „	2 „ 36 „
$^1/_{16}$ „ „	50	2 Min. 24 Sek.	4 „ 12 „
$^1/_{16}$ „ „	100	10 Sek.	1 „ 32 „
$^1/_{16}$ „ „	100	26 „	2 „ 6 „
$^1/_{16}$ „ „	100	73 „	5 „ — „

II.

Da Azetylcholin in hoher Dosierung, wie im einleitenden Teil erwähnt wurde, eine kompensatorische Adrenalinausschüttung macht, sollte in den folgenden Versuchen geprüft werden, ob diese kompensatorische Adrenalinausschüttung bei Anwendung von kleinen Azetylcholindosen vorhanden ist.

Aus diesem Grunde wurden in einer Versuchsserie gleichzeitig mit dem Absetzen der Azetylcholin-Dauerinfusion Adrenalininjektionen verschiedener Konzentration gegeben. Aus Tabelle 3 ist zu ersehen, daß bei einer Dosis von $^1/_{100\,000}$ g Adrenalin und bei höheren Konzentrationen der Blutdruck nach Absetzen der Dauerinfusion innerhalb einer kürzeren Zeit, als zu erwarten war, zum Ausgangswert ansteigt, und daß dabei die Nachwirkungszeit auf 28 Sekunden verkürzt ist. Bei einer Dosis von $^1/_{50\,000}$ g Adrenalin beträgt die Nachwirkungszeit 16 Sekunden. Der Blutdruck steigt jedoch wesentlich über den Ausgangswert hinaus, was in dem vorhergehenden Versuch nicht zu beobachten war, so daß aus der Blutdruckkurve nach

Absetzen der Dauerinfusion ein Überwiegen der Adrenalinwirkung ersichtlich wird. $^1/_{25000}$ g Adrenalin macht ebenfalls eine verkürzte Nachwirkungszeit; auch hier übersteigt der Blutdruck das Ausgangsniveau. Wenn also bei dem Absetzen der Azetylcholindauerinfusion gleichzeitig Adrenalin injiziert wird, so kann die Nachwirkungszeit bei Anwendung von $^1/_{100000}$ g Adrenalin und höheren Konzentrationen verkürzt werden. Denn kleinere Dosen, z. B. $^1/_{200000}$ g Adrenalin, wirken nicht mehr in diesem Sinne. Je höher die Konzentration des Adrenalins gewählt wurde, desto höher war der Blutdruckanstieg und desto kürzer die Nachwirkungszeit.

In den weiteren Versuchen wurden während einer Dauerinfusion von Azetylcholin Einzelinjektionen von Adrenalin gegeben. Die Wirkungsintensität und Wirkungsdauer des Adrenalins waren herabgesetzt. Läßt man die Adrenalinwirkung nicht ganz abklingen, sondern unterbricht während des Blutdruckabfalls die Dauerinfusion, so steigt der Blutdruck sofort auf sein Ausgangsniveau an. In einem Fall wurde 26 Sekunden nach Injektion von $^1/_{100000}$ g Adrenalin die Dauerinfusion unterbrochen (Konzentration: 10,8 γ/Minute Azetylcholin). Die Zeit vom Absetzen der Infusion bis zu dem Zeitpunkt, an dem der Blutdruck wieder auf der normalen Höhe angelangt war, betrug 1 Minute. Bei größeren Adrenalinkonzentrationen kommt dies Bild noch deutlicher zum Ausdruck. So betrug z. B. die Zeit des Anstiegs bei der Konzentration von $^1/_{50000}$ g Adrenalin 20 Sekunden (Tabelle 3).

Tabelle 3.

Azetylcholinkonzentration	Infusionsdauer	Adrenalinkonzentration	Zeit vor Absetzen	Nachwirkungsdauer
11,7 γ/Min.	1 Min. 42 Sek.	—	—	2 Min. 36 Sek.
13,4 „	3 „ — „	—	—	3 „ 6 „
10,0 „	2 „ — „	$^1/_{200}$ der Stammlösung	—	1 „ 48 „
10,5 „	3 „ 48 „	$^1/_{200}$ „ „	—	1 „ 6 „
12,9 „	3 „ 6 „	$^1/_{100}$ „ „	—	— „ 28 „
10,8 „	3 „ 42 „	$^1/_{100}$ „ „	26 Sek.	1 „ — „
10,3 „	1 „ 5 „	$^1/_{50}$ „ „	—	— „ 16 „
10,0 „	2 „ — „	$^1/_{50}$ „ „	54 Sek.	1 „ — „
10,0 „	2 „ 3 „	$^1/_{50}$ „ „	27 „	— „ 20 „
10,5 „	1 „ 54 „	$^1/_{25}$ „ „	—	— „ 25 „
10,2 „	3 „ 55 „	$^1/_{25}$ „ „	30 Sek.	—
10,0 „	8 „ — „	$^1/_{25}$ „ „	—	—
12,9 „	3 „ 5 „	$^1/_{25}$ „ „	50 Sek.	—
10,1 „	1 „ 47 „	$^1/_{25}$ „ „	36 „	1 „ 24 „
9,8 „	2 „ 3 „	$^1/_{25}$ „ „	1 Min. 10 Sek.	— „ 48 „

Eine ähnliche Versuchsserie wurde bei gleicher Azetylcholinkonzentration mit $^1/_{25000}$ g Adrenalin durchgeführt. Die Versuche zeigen deutlich,

daß der Anstieg des Blutdrucks zur Norm um so schneller erfolgt, je kürzer die Zeit zwischen der Adrenalininjektion und dem Absetzen der Dauerinfusion war (siehe Abb. 1 und 2).

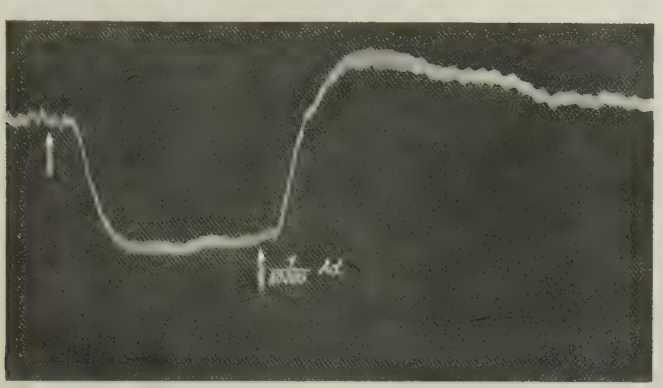


Abb. 1. Dauerinfusion von Azetylcholin 10 γ/Min. Beim Absetzen der Infusion $^1/_{50000}$ g Adrenalin. Nachwirkungszeit: 16 Sek. (Zeiterklärung wie bei Abb. 2).

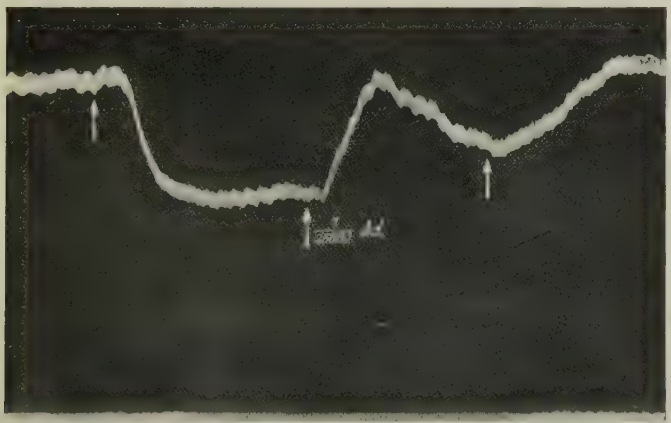


Abb. 2. Dauerinfusion von Azetylcholin 10 γ/Min. Während der Infusion $^1/_{25000}$ g Adrenalin. 36 Sek. nach der Injektion Dauerinfusion abgesetzt. Nachwirkungszeit: 1 Min. 24 Sek.

III.

Im dritten Teil der Arbeit wurden am gynergenisierten, also am sympathicusgehemmten Tier, Einzelinjektionen und Dauerinfusionen mit Azetylcholin durchgeführt. Die Wirkung des Azetylcholins bei Einzelinjektionen ist nur flüchtig, d. h. nach einer sofort eintretenden Senkung stellt sich der Blutdruck innerhalb einiger Sekunden wieder auf seinen Normalwert ein. Bei Dauerinfusionen bleibt der Blutdruck während der Infusion konstant auf einem niedrigeren Niveau. Er steigt jedoch nach Absetzen der Dauerinfusion innerhalb der Zweiminutengrenze wieder auf die normale Ausgangshöhe an. In einer Versuchsserie (vier 20 γ-Azetyl-

cholineinzelinjektionen) war eine deutliche Verlängerung der Azetylcholinwirkung am gynergenisierten Tier zu beobachten (siehe Tabelle 4). Der Verlauf der Kurve zeigt ein deutlich langsameres Ansteigen des Blutdruckes (siehe Abb. 3). Die Wirkungsintensität unterschied sich nicht wesentlich von der Wirkung am nicht gynergenisierten Tier.

Tabelle 4.

(Tier unter Gynergenwirkung.)

Konzentration von Azetylcholin	Dauer der Azetylcholinwirkung	Konzentration von Azetylcholin	Dauer der Azetylcholinwirkung
20 γ Einzelinjektion	2 Min. 26 Sek.	20 γ Einzelinjektion	2 Min. 31 Sek.
20 γ „	2 „ 26 „	20 γ „	2 „ 31 „

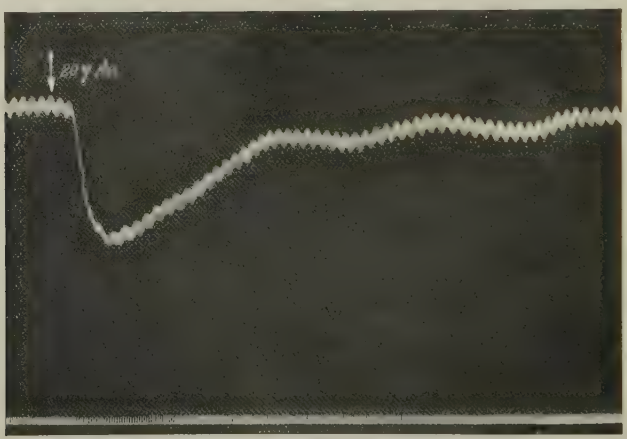


Abb. 3. Einzelinjektion von 20 γ Azetylcholin unter Gynergenwirkung.

Auch bei Dauerinfusionen war eine Wirkungsverlängerung deutlich bemerkbar. Sie überschritt weitestgehend die Zweiminutengrenze und betrug bei zwei Dauerinfusionen von 20 γ/Min. Azetylcholin 6 Minuten 56 Sekunden und 7 Minuten 58 Sekunden. Es ist jedoch bei diesen Versuchen zu bemerken, daß der Blutdruck nach dem Absetzen der Dauerinfusion in beiden Fällen innerhalb 1—2 Minuten ziemlich schnell auf einen Wert, der ungefähr 20—30 mm Hg unterhalb des Ausgangswertes liegt, ansteigt und sich dann ganz allmählich auf das normale Ausgangsniveau einstellt (siehe Tabelle 5 und Abb. 4).

Tabelle 5.

Konzentration von Azetylcholin	Dauer der Azetylcholinwirkung
20 γ/Min. Dauerinfusion, 2 ccm	6 Min. 56 Sek.
20 „ „ 2 „	7 „ 58 „

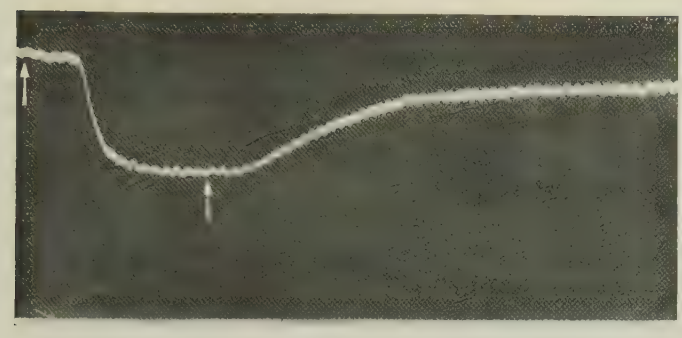


Abb. 4. Dauerinfusion von 20 γ/Min. Azetylcholin (unter Gynergenwirkung). Infusionsdauer: 2 Min. Nachwirkungszeit: 6 Min. 56 Sek.

Besprechung der Versuchsergebnisse.

Aus der eingangs erwähnten Arbeit von Gremels geht eindeutig hervor, daß die Adrenalinwirkung durch Azetylcholin wesentlich beeinflußt werden kann. Bei Einzelinjektionen von Adrenalin erfolgt ein steiler Blutdruckanstieg, der nach Erreichung des Wirkungsmaximums allmählich wieder abklingt. Durch Beeinflussung mittels Azetylcholins tritt eine merkliche Änderung im Wirkungsverlauf dieser Adrenalinwirkung ein: Erstens erfolgt der Anstieg langsamer und zweitens ist die Wirkungsintensität abgeschwächt. Gremels konnte schon mit Dosen von Azetylcholin, die noch keine periphere Wirkung auf den Kreislauf ausüben, diese Änderung im Wirkungsverlauf des Adrenalins durch eine besonders empfindliche Reaktion nachweisen. Gremels findet eine Erklärung dieser Tatsache darin, daß diese kleinen Azetylcholindosen eine erhöhte Erregbarkeit des Vaguszentrums hervorrufen.

In der vorliegenden Arbeit konnte der Beweis dafür erbracht werden, daß durch verschiedene Azetylcholinkonzentrationen die Adrenalinwirkung deutlich verändert wird. Ein wesentlicher Faktor für den Grad der Beeinflußbarkeit der Adrenalinwirkung durch Azetylcholin ist der Zeitpunkt, in welchem Azetylcholin während des Adrenalinwirkungsverlaufs gegeben wird. Wird nämlich während des Anstieges der Blutdruckkurve Azetylcholin injiziert, so kann schon durch geringere Dosen von Azetylcholin, z. B. 1 bzw. 5 γ Azetylcholin, die Wirkungsdauer des Adrenalins wesentlich verkürzt werden (siehe Tabelle 2). Gibt man dagegen Azetylcholin auf dem absteigenden Schenkel der Adrenalinwirkungskurve, so besteht ein wesentlicher Unterschied gegenüber dem vorigen Versuch. Es tritt hierbei eine Blutdrucksenkung auf, doch wird die Dauer der eigentlichen Adrenalinwirkung nicht verkürzt. Dieser Unterschied beruht wahrscheinlich darauf, daß im Anstieg des Blutdrucks, also im Beginn der Adrenalinwirkung, das Gefäßsystem sich in einem labilen Zustand, beim Abklingen der Adrenalinwirkung der Gefäßtonus sich in einer Gleichgewichtslage befindet.

Nach den Arbeiten von Dale sowie Feldberg und Minz wird durch Azetylcholin eine kompensatorische Adrenalinausschüttung hervorgerufen. Die regulatorische Wirkung erfolgt durch einen spezifischen Reiz des Azetylcholins auf die chromaffinen Zellen der Nebennieren selbst sowie auch auf die sympathischen Ganglien. Feldberg und Minz ist es jedoch nur bei großen Azetylcholindosen gelungen, diese kompensatorische Adrenalinausschüttung nachzuweisen.

Die Versuche über die Nachwirkungszeit bei Dauerinfusionen von Azetylcholin haben gezeigt, daß diese unabhängig ist von der Konzentration oberhalb des Wirkungsmaximums von Azetylcholin (7,5 – 10 γ/Minuten). Jedoch bleibt die Frage unbeantwortet, warum nach Absetzen einer Azetylcholin-Dauerinfusion verschiedener Konzentration sich diese in ihrer Nachwirkungszeit nicht unterscheiden, und der Blutdruck sich immer wieder innerhalb eines bestimmten Zeitintervalls (2 Minuten) auf den normalen Blutdruckwert einstellt. Nach unseren Versuchen kann vermutet werden, daß für diese konstante Zeit das kompensatorisch ausgeschüttete Adrenalin verantwortlich zu machen ist. Denn je größer man die Azetylcholindosis wählt, um so höher steigt der Blutdruck danach an, d. h. um so größer ist die Adrenalinausschüttung.

Wenn man jetzt gleichzeitig mit der Unterbrechung der Dauerinfusion Adrenalin injiziert, so wird eine verkürzte Nachwirkungszeit erhalten, was aus Tabelle 3 hervorgeht. Man könnte jedoch bei dieser Versuchsanordnung annehmen, daß im Augenblick des Absetzens der Infusion das Adrenalin überwiegt und dadurch der schnelle Anstieg des Blutdrucks zustandekommt. Z. B. geht der Blutdruck bei einer Injektion von $^1/_{25000}$ g Adrenalin weit über das normale Niveau hinaus, so daß hieraus eine vorherrschende Adrenalinwirkung ersehen werden kann. Bei der Konzentration $^1/_{100000}$ g Adrenalin fehlt jedoch die Blutdrucksteigerung nach der Injektion, und doch ist die Nachwirkungszeit auf 28 Sekunden verkürzt. Ganz allgemein wird die Wirkung einer Adrenalindosis, die während des Verlaufs einer Dauerinfusion von Azetylcholin gegeben wird, in ihrer Intensität und Dauer abgeschwächt. Nach einem Blutdruckanstieg post injektionem fällt dieser auf das durch die Azetylcholin-Dauerinfusion bedingte Senkungsniveau wieder ab. Unterbricht man nun auf dem absteigenden Schenkel der Adrenalin-Blutdruckkurve, d. h. vor dem vollständigen Abklingen seiner Wirkung, die Dauerinfusion, so steigt der Blutdruck im Augenblick auf sein normales Ausgangsniveau wieder an. Er steigt jedoch nicht darüber hinaus an, weil in diesem Falle die Adrenalinwirkung bereits abgeklungen ist. Je geringer das Zeitintervall ist zwischen der Adrenalininjektion und dem Absetzen der Dauerinfusion, um so kürzer wurde die Nachwirkungszeit gefunden.

Da die Nachwirkungszeit unabhängig ist von der jeweiligen Azetylcholinkonzentration, so ist anzunehmen, daß die Menge des jeweils ausgeschütteten Adrenalins der Menge des infundierten Azetylcholins entspricht,

d. h. sie reicht gerade aus, um den Blutdruck wieder auszugleichen. Bei großen Dosen von Azetylcholin (5—10 mg) wird dagegen mehr Adrenalin ausgeschieden, wodurch eine nachhaltige Steigerung des Blutdrucks über das normale Niveau hervorgerufen wird.

Wenn für das zeitlich konstante Ansteigen des Blutdrucks nach Azetylcholin-Dauerinfusionen verschiedenster Konzentrationen das kompensatorisch ausgeschüttete Adrenalin verantwortlich zu machen ist, so muß bei Lähmung des Sympathicus die Nachwirkungszeit verlängert werden. Dies trifft auch nach vorheriger Gynergenisierung des Tieres tatsächlich zu. Sowohl bei Einzelinjektionen als auch bei Dauerinfusionen von Azetylcholin konnte in den entsprechenden Versuchen eine verlängerte Nachwirkungszeit beobachtet werden. Nach der Ansicht von Dale wird die verlängerte Wirkungsdauer von Azetylcholin am gynergenisierten Tier durch Lähmung bzw. Hemmung der Cholinesterase hervorgerufen. In unseren Versuchen findet diese Tatsache jedoch darin eine Erklärung, daß durch Blockierung des Sympathicus mittels Gynergen das kompensatorisch ausgeschüttete Adrenalin nicht wirken kann.

Bei großen Dosen von Azetylcholin wird soviel Adrenalin ausgeschüttet, daß der Blutdruck noch nach Erreichung des Ausgangsniveaus über dieses hinaus gesteigert wird. Bei kleinen Azetylcholindosen, bei denen nur eine Senkung des Blutdrucks sichtbar wird, wird eine entsprechende Adrenalinmenge ausgeschüttet, die gerade ausreicht, den Blutdruck auf den normalen Ausgangswert zu heben, aber nicht über diesen hinaus zu steigern. Durch zusätzliche Adrenalinmenge bei Dauerinfusionen von Azetylcholin kann die Nachwirkungszeit verkürzt werden, wenn man die Dauerinfusion unterbricht nach dem Abklingen der Adrenalinwirkung; der Blutdruck wird aber über das normale Ausgangsniveau hinaus gesteigert, wenn das Adrenalin gleichzeitig mit dem Absetzen der Dauerinfusion gegeben wird. Hieraus geht hervor, daß auch bei kleinen Dosen von Azetylcholin Adrenalin kompensatorisch ausgeschüttet wird. Ein Beweis dieser Tatsache ist die verlängerte Nachwirkungszeit nach Lähmung des sympathischen Systems mittels Gynergen.

Zusammenfassung.

1. Die Adrenalinwirkung kann weitestgehend durch Azetylcholin beeinflußt werden; wesentlich dabei ist der Zeitpunkt, in dem Azetylcholin gegeben wird.

Die Konzentration spielt nur insofern eine Rolle, als bei höheren Konzentrationen gegenüber geringeren die Wirkungsdauer stärker abgeschwächt bzw. verkürzt wird.

2. Für die fast konstante Nachwirkungszeit bei Azetylcholindauerinfusionen verschiedener Konzentrationen ist das kompensatorisch aus-

geschüttete Adrenalin verantwortlich zu machen; dies trifft auch zu bei kleinen Azetylcholindosen, die nur eine Muskarinwirkung auf den peripheren Kreislauf haben.

3. Die Verlängerung der Wirkungsdauer des Azetylcholins durch Gynergen ist auf die sympathicushemmende Wirkung des Gynergens und nicht auf die Esterasehemmung zurückzuführen.

Das Azetylcholin für unsere Versuche wurde uns freundlicherweise von der Firma Hoffmann La Roche, Berlin, und das Gynergen von der Firma Sandoz, Nürnberg, zur Verfügung gestellt.

Literaturverzeichnis.

Kretschmer, W.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **57**, 423 (1907). — Schlossmann, H.: Ebenda **138**, 142 (1928). — Schretzenmayr, A.: Ebenda **152**, 210 (1930). — Feldberg, W., u. Minz: Ebenda **163**, 66 (1932). — Feldberg, W., u. Minz: Ebenda **165**, 261 (1932). - Gutmann, P.: Ebenda **166**, 612 (1932). — Heller, H., u. G. Kusunoki: Ebenda **173**, 301 (1933). — Hauschild, Fr., u. L. Lendle: Ebenda **178**, 367 (1935). — Gremels, H., u. Zinnitz: Ebenda **179**, 229 (1935). — Krayer, O., u. E. B. Verney: Ebenda **180**, 75 (1936). - Gaddum, J. H., u. Dale: Gefäßerweiternde Stoffe der Gewebe. Leipzig, Verlag Georg Thiem, 1936. — Gremels, W.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **188**, 1 (1938). — Zinnitz, F.: Ebenda **188**, 328 (1938).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin.

Über die entzündungswidrige Wirkung des Rein-Azulens aus Matricaria Chamomilla L.

Von

Wolfgang Heubner und **Wolfgang Albath.**

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 13. März 1939.)

I.

Daß der Kamillenblüte bzw. dem in ihr enthaltenen ätherischen Öle neben anderen Wirkungen ganz besonders entzündungswidrige Eigenschaften zukommen, ist schon in der Volksmedizin bekannt. In systematischen Versuchen hat Arnold[1] die erfolgreiche Behandlung von Lichterythemen an Kindern mit Kamilleninfusen überzeugend belegt.

Heubner und Grabe[2] verglichen die entzündungswidrige Wirkung verschiedener Fraktionen des aus Matricaria Chamomilla L. zu gewinnenden ätherischen Öles. Als besonders entzündungswidrig wurde die tiefblaue Fraktion vom K. P. 11 mm 150—200° C mit der höchsten Konzentration an dem blauen Kohlenwasserstoff Azulen ($C_{15}H_{18}$) von bisher unbekannter chemischer Konstitution befunden. Als Teste dienten die Senfölchemosis am Kaninchenauge und Lichterytheme an Menschen und Tieren.

Hesse, Altner und Zeppmeisel[3] erwähnten in einer Arbeit über Calciumglucoheptonat (Teil II C, Antiphlogose durch C.), daß sie die Angaben von Heubner und Grabe hinsichtlich des Azulens nicht hätten bestätigen und auch mit anderen Kamillenpräparaten eine zureichende entzündungswidrige Wirkung nicht hätten auffinden können. Die Kamille wirke viel zu schwach antiphlogistisch, als daß sie mit den uns zur Verfügung stehenden, immerhin recht groben Methoden einwandfrei erfaßbar wäre. Nach einer persönlichen Mitteilung von Hesse wurden zwei verschiedene Azulenpräparate und sechs verschiedene Kamillenextrakte mit der Senfölchemosis am Kaninchenauge nach Heubner-Grabe, der Kupfersulfatpleuritis nach Gold[4], der Hefepleuritis nach Pohl[5], schließlich mit Lichterythemen an Ratten und Kaninchen auf eine entzündungswidrige Wirkung geprüft; sie war aber nicht nachweisbar.

Metelmann[6] verglich den therapeutischen Effekt von „Kamillosan" (Chemisch-Pharmazeutische A.-G. Bad Homburg in Frankfurt a. M.) mit dem von Chloramin in seinem Wirkungsgrad auf Schädigung des Kaninchenohres durch Dichlordiäthylsulfid und fand eine dem Chloramin gleichwertige Heilkraft von Kamillosanverbänden. Bei Behandlung mit einem Kamillenaufguß und mit Kamillosansalbe war ein Erfolg nicht sichtbar.

Von großem Interesse sind Untersuchungen von Jaretzky und Neuwald[7], deren Ergebnisse kurz vor Abschluß der vorliegenden Versuche erschienen. Auf der Suche nach einer Ersatz- oder Paralleldroge für Matricaria Chamomilla L., deren Einfuhr aus dem Auslande bei dem starken Bedarf an dieser Droge (mehrere 100000 kg bei einer Eigenerzeugung von etwa 100000 kg) notwendig ist, sind in der

letzten Zeit von mehreren Autoren, sogar in Lehrbüchern, die Blüten der als Unkraut auch in Deutschland weit verbreiteten strahlenlosen Matricaria Discoidea als vollkommen gleichwertig empfohlen worden. Jaretzky und Neuwald gewannen aus dieser Droge ein gelbgefärbtes Oleum Discoideae aethereum und stellten pharmakologische Vergleichsprüfungen mit einem blaugefärbten Oleum Chamomillae aethereum auf entzündungswidrige Wirkung an der Senfölchemosis von Kaninchen- und Meerschweinchenaugen an. Die Ergebnisse zeigten eindeutig, daß wohl dem blaugefärbten, also azulenhaltigen Öl der Matricaria eine entzündungswidrige Wirkung zukommt, nicht aber dem gelben azulenfreien Discoidea-Öl. Das Ergebnis dieser Untersuchungen stützt die Anschauung, daß gerade dem Blau-Anteil in dem ätherischen Öl der echten Kamille spezifische entzündungswidrige Eigenschaften zukommen.

Im Jahre 1938 berichteten Kaiser und Frey[8] über eine verbesserte Abtrennung und Darstellung des Azulens. Sie isolierten das gesamte Rohazulen (ein Gemisch von Azulen mit borneol-campherähnlich riechenden Verbindungen, bestehend aus reinblauen, sowie gelblichen und hell- bis dunkelgrünen Anteilen) auf direktem Weg durch Fällen mittels Ferrocyanwasserstoffsäure und trennten hieraus den blauen Anteil auf chromatographischem Wege ab, den sie „Rein"-Azulen benannten.

Wenn das Reinazulen tatsächlich der wesentliche entzündungswidrige Wirkstoff von Matricaria Chamomilla ist, so wäre mit der Methode von Kaiser und Frey, die mit einigen Tropfen ätherischen Öles durchzuführen ist, eine zuverlässige Wertbestimmung der Droge durchzuführen.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die entzündungswidrige Wirkung des von Kaiser und Frey weiter gereinigten Blauöls der Matricaria Chamomilla L., des Reinazulens, zu prüfen und mit objektiven Meßmethoden zu belegen.

Zur Verfügung standen das Reinazulen, der Rest des bei der Gewinnung des Azulens anfallenden ätherischen Öles, sowie Kamillosan. Alle diese Präparate wurden von der Chemisch-Pharmazeutischen A. G. Bad Homburg in Frankfurt am Main zur Verfügung gestellt.

Das Reinazulen ist ein tiefblaues, dickflüssiges Öl, dessen Geruch recht schwer zu definieren ist; es erinnert an den Geruch eines Weinkorken oder an einen Gasschlauch. Verschiedene Personen, denen die Substanz nicht bekannt war, gaben sehr verschiedene Definitionen: aromatisch-fruchtig, essigähnlich, heidelbeerähnlich, jodoformähnlich, mandelähnlich, Geruch nach Terpenen oder Campherstoffen usw. Der Geschmack ist hefeähnlich und blieb mehrere Stunden lang bestehen; eine winzige Kostprobe verursachte noch nach 8 Stunden Aufstoßen mit dem irgendwie charakteristischen Geschmack. Die tiefblaue Farbe haftet fest in der Haut und in weißem Stoff; sie ist mit kaltem Wasser und Seife schlecht, mit warmem Wasser und Seife etwas besser, mit Alkohol gut zu entfernen. Applikation auf die gesunde Haut erzeugte keine Reizerscheinungen.

Das Restöl ist frei von Azulen und sonstigen durch Ferrocyanwasserstoff ausgefällten Bestandteilen; es stellt ein etwas dünnflüssigeres Material von tiefbrauner Farbe dar, dessen Geruch dem charakteristischen Kamillengeruch entspricht, der auf die Dauer penetrant wirkt. Der Geschmack ist

ebenfalls typisch kamillenartig. Eine Kostprobe verursachte für etwa 12 Stunden unangenehmen Kamillengeschmack und Aufstoßen. Reizerscheinungen waren auf der gesunden Haut nicht festzustellen.

Die beiden Substanzen wurden in 25%iger Lösung in reinem Olivenöl angewandt.*

II. Methodik der pharmakologischen Prüfung.

1. Senfölchemosis.

Die Senfölchemosis wurde am Kaninchen- und Katzenauge nach der von Heubner und Grabe benutzten Methode erzeugt: Einträufelung einer 30%igen Allylsenföl-Lösung in reinem Olivenöl, zuerst rechts und links ein Tropfen, nach 2 Minuten ein weiterer Tropfen. Die Tiere wurden solange beobachtet, bis die Trübung der Cornea zurückgegangen oder stabilisiert war. Bei den Katzen trat niemals ein Trübung der Cornea auf, so daß hier bis zur Heilung der Conjunctivitis beobachtet wurde.

Die zu untersuchenden Substanzen wurden 15 Minuten nach Applikation des Senföls zum ersten Male eingeträufelt, jeweils 1 Tropfen, weiterhin zehnmal alle 15 Minuten 1 Tropfen. Ein Auge des jeweiligen Versuchstieres wurde mit dem 25%igen Azulen, das andere zum Vergleich mit dem 25%igen Restöl oder mit reinem Olivenöl behandelt.

2. Lichterytheme an Ratten.

Die Erytheme an Ratten wurden 24 Stunden nach Enthaarung der Bauchseite mittels Bariumsulfid mit der Quarzlampe erzeugt, jedoch nur, wenn keine Reizerscheinungen bestanden. Männliche Ratten im Gewicht von etwa 200 g wurden in leichter Äthernarkose 3—20 Minuten im Abstand von 20 cm bestrahlt; die benutzte Quarzlampe war ziemlich alt und nicht mehr allzu wirksam; auch schien während ihrer Benutzung die Intensität abzunehmen, so daß längere Bestrahlungszeiten gewählt werden mußten. Die Tiere waren über der Bauchseite vollständig zugedeckt mit einer Pappmanschette, in der 6 kreisrunde Stellen von 0,5 cm Durchmesser im Abstande von je 1 cm ausgestanzt waren. Nach der Bestrahlung wurden die mit den zu prüfenden Substanzen benetzten Mulltupfer an den mit Zinkleim umstrichenen bestrahlten Stellen befestigt und die ganze Bauchseite mit Guttapercha abgedeckt. Darüber kam ein Gipsverband, der ein Loßreißen verhinderte. Die Verbände blieben etwa 24 Stunden liegen und wurden bis zur Abheilung erneuert.

Nekrosen oder Verschorfung konnten in keinem Falle beobachtet werden. Verglichen wurden immer an je 2 Stellen Reinazulen, Restöl und als Kontrolle Olivenöl. Eine quantitative Erfassung des Entzündungsablaufs mit der an Erythemen der menschlichen Haut angewandten Methode (vgl. Abschnitt 3) ließ sich nicht durchführen; doch genügten diese Versuche zur ersten Orientierung.

3. Lichterytheme an der menschlichen Haut.

Diese wurden am Unterarm erzeugt, der mit einer Manschette bedeckt wurde, in der 6 kreisrunde Löcher mit einem Durchmesser von 11 mm in einem Abstande von je 1,5 cm ausgestanzt waren. Mit einem noch gut wirksamen Analysen-Queck-

* Erst nach Niederschrift dieser Arbeit und Herstellung der Korrekturabzüge erhielten wir noch eine Probe des zwischen dem „Reinazulen“ und dem „Restöl“ stehenden Anteils des Kamillenöls, nämlich desjenigen Anteils, der zwar auch durch Ferrocyanwasserstoff fällbar, chromatographisch aber vom Reinazulen abzutrennen ist. Wir hoffen später auch über die Wirkung dieses Anteils berichten zu können.

silberquarzbrenner wurde — auf Grund des Ergebnisses von Vorversuchen — im Abstand von 20 cm 10 Minuten lang bestrahlt. Die bestrahlten Stellen wurden mit Zinkleim umstrichen, Tupfer mit den zu prüfenden Substanzen fixiert, mit Guttapercha bedeckt und das Ganze mit Leukoplast befestigt. Der Verband blieb jeweils 24 Stunden liegen und wurde bis zur Heilung täglich erneuert. Geprüft wurde jeweils an 2 Stellen Azulen, Restöl und Kamillosan. Nekrosen und Verschorfungen wurden in keinem Fall beobachtet.

Der Ablauf der Entzündung wurde optisch gemessen mit Hilfe des Pulfrichschen Stufenphotometers nach der von H. J. Oettel[9] angegebenen Methode; dabei wird die Intensität der von der Haut rückgestrahlten Helligkeit gemessen.

Das Stufenphotometer wird als „Episkop" aufgebaut. Die Färbung der Haut wird durch Vorschalten eines Farbfilters in der Komplementärfarbe (blau) kompensiert, so daß der Eindruck „grau" erhalten wird. Das Licht der Lampe fällt einerseits auf die zu untersuchende Hautfläche, andererseits auf eine Barytweißplatte als konstante Vergleichsbasis; deren Helligkeit wird gleich 100 gesetzt. Der Abstand der Objektivlinsen vom Objekt wird konstant gehalten, ebenso die Entfernung der Lichtquelle. Durch Einstellung des optischen Systems auf Unendlich werden die Oberflächenunterschiede zwischen Haut und Barytweißfläche ausgeglichen. Die Messung erfolgt durch Schwächung des helleren (von der Barytweißplatte rückgestrahlten) Lichtes bis auf die Helligkeit des von der Hautstelle rückgestrahlten Lichtes. Die Werte werden in Prozent Helligkeit ausgedrückt. Die unveränderte Haut der V. P. hatte einen Helligkeitswert von etwa 70 %.

III. Ergebnisse.

1. Senfölchemosis.

A. Kaninchen.

Tier Nr.	Heilung nach Tagen			Tier Nr.	Heilung nach Tagen		
	Olivenöl	Restöl	Azulen		Olivenöl	Restöl	Azulen
77	> 14	—	3	203	—	> 14	7
0	> 14	> 14	—	204	—	> 14	4
A	> 14	—	5	205	—	10	3
76	> 14	—	3	206	—	> 14	3
201	> 14	> 14	—	210*	—	> 14	3
202	> 14	—	4				

* Die beiden folgenden Photographien 1a und 1b zeigen die Ausdehnung des Entzündungsprozesses bei dem Kaninchen 210 etwa 24 Stunden nach Behandlung.

a b

Abb. 1. Augen eines Kaninchens nach gleichmäßiger Vorbehandlung mit Senföl. Nachbehandlung a) Rechtes Auge, Azulen b) Linkes Auge, Restöl

B. Katzen.

Tier Nr.	Heilung nach Tagen		
	Olivenöl	Restöl	Azulen
1	3	—	1
2	6	—	4
3	6	5	—
4*	—	4	2
5	—	3	1

* Die folgende Photographie 2 zeigt die Ausdehnung der Chemosis bei der Katze 4 etwa 24 Stunden nach Behandlung.

a b

Abb. 2. Augen einer Katze nach gleichmäßiger Vorbehandlung mit Senföl. Nachbehandlung: a) Rechtes Auge, Azulen b) Linkes Auge, Restöl

2. Erytheme an Ratten.

Bestrahlungsdauer in Min.	Dauer der Entzündung in Tagen			Bestrahlungsdauer in Min.	Dauer der Entzündung in Tagen		
	Olivenöl	Restöl	Azulen		Olivenöl	Restöl	Azulen
4	6	6	3*	15	—	6	2
3	2	2	2	10	1	1	1
4	5	5	5	15	—	4	1
4	4	4	3	20	—	3	1
5	4	4	4	15	4	4	1
10	5	5	2				

* Das Tier starb aus unbekannten Gründen nach 6 Tagen.

3. Erytheme an Menschen.

Insgesamt wurden 4 Versuche an jeweils 2 Stellen für jede zu prüfende Substanz vorgenommen. Da die mit dem Stufenphotometer gemessenen

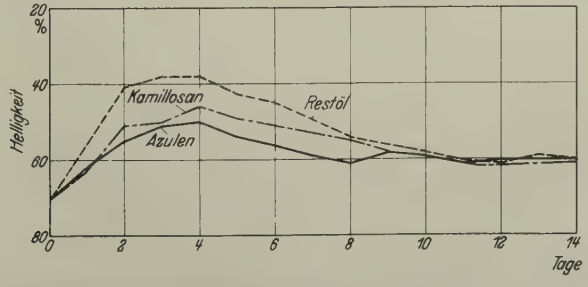


Abb. 3. Verlauf der photometrisch erhaltenen Werte auf der ultraviolett bestrahlten Haut eines Menschen unter verschiedener Behandlung.

Werte für parallel behandelte Hautstellen sehr dicht beieinander lagen, konnten die Einzelwerte zusammengefaßt und als Durchschnitt berechnet werden. Jeder Punkt auf den Kurven entspricht also dem Mittel aus 8 Einzelwerten. Der Vergleich der Kurven zeigt auf das deutlichste, frei von jeder subjektiven Schätzung, daß das Rein-Azulen (und das azulenhaltige Kamillosan) die Rötung und spätere Pigmentierung stark abschwächen, d. h. die Intensität des entzündeten Prozesses mildern, der Rest des Kamillenöls aber nicht (zur Definition dieses „Restes" vgl. oben S. 384).

Zusammenfassung.

Das aus dem ätherischen Öl der Matricaria Chamomilla L. durch Fällung mit Ferrocyanwasserstoff abgetrennte und auf chromatographischem Wege gereinigte Rein-Azulen und das nach der Abtrennung anfallende Restöl wurden auf ihre entzündungswidrige Wirkung gegeneinander und gegen Kontrollen geprüft. Es ergab sich, daß das Rein-Azulen der entzündungswidrige Bestandteil ist.

Literatur.

1) Arnold, W.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **123**, 129 (1927). — 2) Heubner u. Grabe: Ebenda **171**, 329 (1933). — 3) Hesse, E., Altner u. Zeppmeisel: Klin. Wschr. **1936**, S. 1485. — 4) Gold: Arch. int. Med. (Am.) **42**, 576 (1928). — 5) Pohl: Ther. Gegenw. **1922**, S. 874. — 6) Metelmann: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 263 (1938). — 7) Jaretzky u. Neuwald: Arch. Pharmaz. usw. **277**, 50 (1939). — 8) Kaiser u. Frey: Dtsch. Apoth.-Ztg. **1938**, S. 1375. — 9) Oettel, H. J.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **183**, 641 (1936).

Aus dem pharmakologischen Institut der Universität Berlin.

Über arekanußhaltige Wurmmittel*.

Von

Helmut Schlegel.

Mit 11 Textabbildungen.

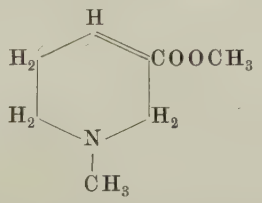
(Eingegangen am 9. Februar 1939.)

I.

Im Deutschen Arzneibuch (DAB. 6) sind Semen Arecae sowie Arecolinum hydrobromicum, ein Salz des aus der Droge isolierten Hauptalkaloids, aufgeführt. Während jedoch Arecolinhydrobromid „sehr vorsichtig aufzubewahren" ist (Tabula B), besteht keinerlei Vorschrift über Aufbewahrung sowie Abgabe der Arekanuß.

Die Ursache der abweichenden Beurteilung eines stark wirksamen Alkaloids und dessen Ursprungsdroge scheint durch die mangelhafte Kenntnis der Toxizität der genannten Droge bedingt zu sein. Zur Aufklärung der wahren Verhältnisse soll die vorliegende Arbeit beitragen.

Das Arecolin, der N-methyltetrahydronikotinsäuremethylester,



ist ein Alkaloid, das in seiner Wirkung den Alkaloiden der Cholingruppe am nächsten steht. Obgleich es sich ohne Zweifel um eine starkwirksame Substanz handelt, ist das Hydrobromid ins Deutsche Arzneibuch ohne Höchstdosis aufgenommen. In der Pharmakop. Rossic. sowie in der Pharmakop. Gallic. hat es die Höchstdosis 0,0005 bzw. 0,0015 g, in der Pharmakop. Helvet. 0,002 bzw. 0,006 g. Die Schweizer Pharmakopoe als einzige enthält Höchstdosen auch für Semen Arecae, und zwar 3 bzw. 6 g.

Erfahrungen am Menschen, die solchen Dosierungsvorschriften zugrunde gelegt wurden, sind uns unbekannt. — Innerhalb der einzelnen Tiergruppen aber, bei denen Arekanuß und Arecolinhydrobromid seit 1894 (1) im weitesten Umfang zur therapeutischen Anwendung kamen, sei es als Anthelminthicum oder zur Bekämpfung bedrohlicher Koliken, haben sich große Unterschiede in der Empfindlichkeit gezeigt. Von Rusvay (2)

* D 11, ausgeführt im Auftrage und mit Unterstützung der deutschen pharmakologischen Gesellschaft aus Mitteln des Reichsministeriums des Innern.

wird die perorale anthelminthische Dosis von Arecolinhydrobromid für den Hund mit 2 mg pro kg, von Fröhner (1) sogar mit 4—5 mg pro kg angegeben. Veenendaal (3), der die große therapeutische Breite des Mittels bei Hunden betont, warnt vor dem Gebrauch bei Katzen als einem stets gefährlichen Unternehmen. Die therapeutische subcutane Dosis zur Behebung der Verstopfungskolik beträgt beim Pferde 0,2 mg pro kg (1), ist also wesentlich niedriger als beim Hund; die letale Dosis beträgt 1,4 mg pro kg (4). Beim Rinde wiederum liegen therapeutisch wirksame Dosen, wie Fröhner (1) feststellt, stets innerhalb des toxischen Bereichs. — In neuerer Zeit ist die Toxizität von Stefánsson (5) am Meerschweinchen geprüft worden. Die tödliche Grenzdosis lag bei einmaliger intramuskulärer Injektion bei etwa 6 mg pro kg Tier; bei sehr langsamer intravenöser Dauerinfusion trat der Tod ein, wenn insgesamt 1 mg eingeflossen war. Der Tod erfolgte physostigminartig durch Lähmung der Atmung; auch eine Herzwirkung schien an der tödlichen Wirkung beteiligt zu sein.

Sichere Vergiftungen von Menschen durch Arecolin sind nicht bekannt. Oettel (6) beschrieb eine Vergiftung mit Arekanuß: Es handelte sich um einen Patienten, der nach der Einnahme von 8 g Arekanuß und 2 g Aloe mit schweren Brechdurchfällen, Kollaps und Bewußtlosigkeit in die Klinik aufgenommen wurde. Neben schwerer Gastroenteritis bestand für kurze Zeit leichter Ikterus und etwas Nierenreizung.

Obgleich in diesem Fall der Zusammenhang zwischen eingenommenem Mittel und Vergiftung nicht zu bezweifeln war, glaubte der Verfasser auf Grund seiner eingehenden Literaturstudien doch, die für den Menschen als toxisch zu bezeichnende Arekanußmenge nicht mit Sicherheit angeben zu können. Er richtete daher folgende Umfrage (6) an die Leser der Deutschen Apothekerzeitung:

1. Wo wird Arekanuß in Deutschland noch in der Humanmedizin verwendet?

2. In welcher Indikation und in welcher Dosierung?

3. Welche Nebenwirkungen und Vergiftungserscheinungen sind beim Menschen beobachtet worden?

Hierbei interessierte die Dosierung insbesondere deshalb, weil die diesbezüglichen Angaben der Arzneiverordnungsbücher uneinheitlich sind. Der englische Arzt Barclay (7), der 1861 zum ersten Male Arekanuß als Bandwurmmittel für den Menschen empfahl, gab eine Dosis von 4—6 „Drachmen" an, was der Menge von 16—23 g entspricht. Einige der späteren Autoren haben nun Dosen angegeben, denen eine Umrechnung des Drachmenwertes zugrunde zu liegen scheint, während andere wahrscheinlich versehentlich Drachmen gleich Gramm gesetzt haben. So nennt Lewin (8) eine anthelminthische Dosis von 15—20 g, Filehne (9) eine solche von 10—25 g, wogegen an anderen Stellen (10), besonders aber in den neueren Arzneiverordnungsbüchern (11) 4—6 g angegeben werden.

Die Umfrage ergab, daß Arekanuß in Deutschland seit Jahrzehnten nicht mehr verordnet wird, jedoch in mehreren Wurmmitteln des Handverkaufs enthalten ist, insbesondere seit dem Weltkrieg als Ersatz für Santonin. Schädigungen sind wohl nicht ausgeblieben, da vor wenigen Jahren in zwei Bezirken des Landes Baden aus uns unbekannten Gründen der Drogerieverkauf eines jener Präparate von amtlicher Seite verboten wurde.

II.

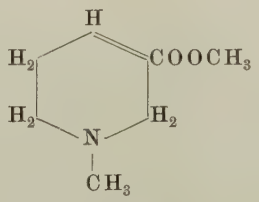
Um die noch offenstehende Frage nach der Möglichkeit von Schädigungen durch arekanußhaltige Wurmmittel zu klären, wurden auf Anregung des Herrn Dozenten Dr. H. Oettel Untersuchungen an den folgenden, im Handel erhältlichen Wurmmitteln ausgeführt:

1. „Areka-Wurmpastillen mit Schokolade". Hersteller: H. Remmler, Berlin. Deklaration: in 1 Pastille 0,25 g Arekanuß. Eine Originalpackung = 20 Schokoladenpastillen zu je 1 g. Dosierungsvorschrift: Kinder täglich 2 Pastillen.
2. „Gimborns Wurmmittel Veril." Hersteller: H. v. Gimborn A.-G., Emmerich a. Rh. Deklaration: Schokolade mit 10% Arekanußpulver. Eine Originalpackung = 1 Tafel Schokolade = 8 Abteilungen zu je 2,5 g. Dosis: Erwachsene täglich 4 Abteilungen.
3. „Dr. Buflebs Würmol" (Medizin. Wurmbonbons). Hersteller: Fa. „Debuco". Deklaration: Kakao, Zucker, Arekanuß. Eine O.-P. = 12 Bonbons zu je 3 g. Dosis: Erwachsene täglich 5–6 Stück.
4. „Dr. Soldans Wurmbonbons." Hersteller: Dr. C. Soldan GmbH., Nürnberg. Deklaration: Cacao Sacchar. vacuo praeparat. cum Sem. Arecae bisdep. Eine O.-P. = etwa 77 Bonbons zu je 0,65 g. Dosis: Erwachsene täglich 8 Stück.
5. „Wurmschokolade Meho." Hersteller: Labor. „Meho", Waltershausen i. Th. Eine O.-P. = 1 Tafel Schokolade = 12 Abteilungen zu je 2 g. Dosis: Erwachsene täglich 3 Abteilungen.
6. „Dr. Jürgens Wurmkur." Hersteller: Bartschat, Berlin-Lichterfelde. Bestandteile: 8 g Semen Arecae plv., Caps. Ol. Rizini No. VI (13,7 g). Dosierung: an zwei aufeinanderfolgenden Tagen je die Hälfte der Kur zu nehmen.
7. „Arekanuß-Bandwurmmittel Fort-Ist-Er." Hersteller: Otto Reichel, Berlin-Neuköln. Bestandteile: 11 g Semen Arecae plv., Caps. Ol. Rizini No. VI (25 g). Dosierung: Pulver auf einmal zu nehmen, Rizinuskapseln 2 Stunden später.
8. „Dr. Kirchmanns Wurmkur." Hersteller: Dr. Kirchmann u. Co., Hamburg. Bestandteile: 10 g Semen Arecae plv. Dosierung: An zwei aufeinanderfolgenden Tagen je eine Hälfte der Kur zu nehmen.

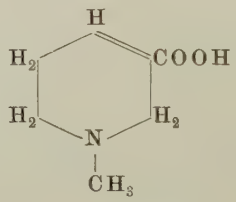
Da es sich bei den genannten Präparaten ausschließlich um Anwendungsformen der Arekanuß und nicht des Reinalkaloids handelte, war es wichtig, neben der Bestimmung des Arecolingehalts auch die Wirkung des Arecolins bei Applikation als Droge zu studieren.

Über den Gesamtalkaloidgehalt der Arekanuß sowie über den Arecolingehalt besteht in der Literatur keine Einstimmigkeit. Jahns (12) isolierte 1888 aus einem Kilogramm gepulverter Betelnüsse durch ein mit großen Verlusten verbundenes Verfahren 0,7—1,0 g Arecolin. Dieser Wert wird noch bis 1929 wiedergegeben (13), obwohl schon 1911 Hartwich (14) einen Gehalt von 0,5% Arecolin angibt. 1918 fand Reutter (15) mit seinem „neuen Verfahren zur Extraktion der Alkaloide" in Nuces Arecae 0,50—0,55% Alkaloid.

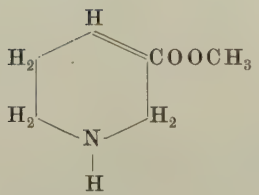
Außer dem Arecolin sollen in der Arekanuß 0,1% Nebenalkaloide enthalten sein (16). Dabei ist es nicht geklärt, wieweit sich dieser Prozentsatz aus dem eigentlichen Nebenalkaloid Guvacolin einerseits, und andererseits aus Arecaidin und Guvacin, den Verseifungsprodukten von Arecolin bzw. Guvacolin, zusammensetzt. Bestimmungen des Guvacolingehalts liegen nicht vor.



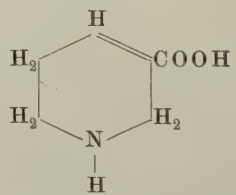
Arecolin



Arecaidin



Guvacolin



Guvacin (Tetrahydronikotinsäure)

Die Bestimmungsmethode des Deutschen Arzneibuchs extrahiert aus einer bestimmten, ammoniakalisch gemachten Menge der Droge die Alkaloide mit Äther. Aus dem Äther werden sie durch Ausschütteln mit einer vorgeschriebenen Menge 0,1 n Salzsäure in Salzform übergeführt. Durch Titration der dabei unverbraucht bleibenden Säuremenge kann auf den Gesamtalkaloidgehalt der untersuchten Droge geschlossen werden. Nach diesem Verfahren sollen mindestens 0,4% Alkaloide, berechnet auf das Molekulargewicht des Arecolins, gefunden werden.

Zur Alkaloidbestimmung in den Wurmmitteln, die nur Zusätze von Arekanuß enthielten, war dieser chemische Weg nicht gangbar. Deshalb,

sowie aus dem Bestreben heraus, nur die physiologisch wirksamen Stoffe zu erfassen, wurde nach der Möglichkeit der Auswertung an biologischen Testobjekten gesucht.

Von den Organwirkungen des Arecolins ist die Tonussteigerung am Darm experimentell am besten zu charakterisieren (17). Stefánsson (5) betont eine Spezifität der Darmwirkung am Meerschweinchen. In dem nach der Methode von Magnus isolierten Dünndarmstück fanden wir ein für unsere Zwecke geeignetes Versuchsobjekt.

Zur Testung an einem isolierten Darmpräparat mußten Extrakte hergestellt werden, die die darmwirksamen Stoffe in indifferenter, von störenden Verunreinigungen praktisch freier Flüssigkeit gelöst enthielten:

1 g der zu untersuchenden Substanz wurde pulverisiert und 24 Stunden durch 70%igen Alkohol mazeriert. Sodann wurde das Gemisch mit 5 ccm 0,1 n Natronlauge alkalisiert und mit 200 ccm Äther 3 Stunden lang im Glassinter-Perforationsapparat extrahiert. Die im Äther nunmehr gelösten Alkaloide wurde ihm durch Ausschütteln mit 10 + 10 + 20 ccm 0,1 n Salzsäure entzogen. Aus dieser Lösung wurde der beigemengte Äther durch leichtes Erwärmen ausgetrieben. Darauf wurde mit Natronlauge neutralisiert und auf ein bestimmtes Volumen gebracht.

Dieses Extraktionsverfahren mußte gewählt werden, da — wie zahlreiche Kontrollversuche zeigten — das sonst übliche Ausschütteln mit Äther selbst bei großem Überschuß des Extraktionsmittels und wiederholter Ausschüttelung keine befriedigenden Ergebnisse lieferte.

Zur Prüfung des Extraktes wurde ein 2 cm langes Darmstück eines kurz vor dem jeweiligen Versuch getöteten Meerschweinchens in 12,5 ccm körperwarmer, durchlüfteter Ringerlösung suspendiert und die Kontraktionen seiner Längsmuskulatur registriert.

Zunächst wurde nach der für das Präparat optimalen Arecolinkonzentration gesucht. Darunter ist der Konzentrationsbereich zu verstehen, durch den das Darmstück deutlich, jedoch nicht übermäßig kontrahiert wird, so daß rasche Ermüdung vermieden wird. Es ergab sich ein Bereich zwischen 0,25 und 0,75 γ Arecolinbase auf 12,5 ccm Suspensionsflüssigkeit. Dies entspricht bei Hinzufügung der Alkaloide in 1 ccm Lösung einer optimalen Konzentration von 2—6 γ-%.

Von den zu untersuchenden Extrakten wurden Verdünnungen hergestellt, welche in 1 ccm Alkaloidmengen in der als optimal erkannten Größenordnung enthielten. Zum Zwecke der Auswertung wurden Arecolinmengen mit gleichstarkem Kontraktionserfolg aufgesucht (Abb. 1). Mehrere Kontrollversuche, bei denen Gemische aus be-

Tabelle 1. Gehalt an extrahierten, darmwirksamen Stoffen, berechnet auf Arecolin. basic.

Semen Arecae DAB. 6.	0,45%
Präparat Nr. 1.....	0,10%
„ „ 2.....	0,05%
„ „ 3.....	0,03%
„ „ 4.....	0,02%
„ „ 5.....	0,01%

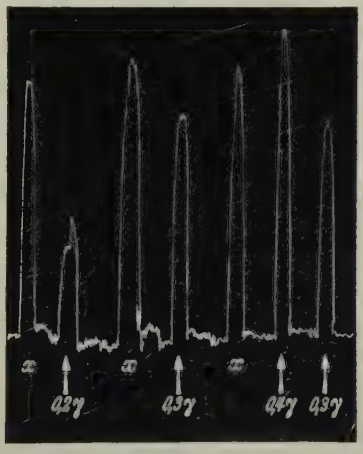


Abb. 1. Auswertung eines arecolinhaltigen Extraktes am isolierten Meerschweinchendarm.

kannten Mengen Arecolin und verschiedenen, die untersuchten Wurmmittel nachahmenden Zusätzen der Extraktion und biologischen Auswertung unterworfen wurden, ergaben eine praktisch 100%ige Ausbeute.

Die so ermittelten Werte für die aus den einzelnen Untersuchungsobjekten extrahierten Mengen an darmwirksamen Stoffen sind in der Tabelle 1 zusammengestellt.

Da es nicht Aufgabe der vorliegenden Untersuchung war, Arekanußproben verschiedener Herkunft bezüglich ihres Alkaloidgehalts miteinander zu vergleichen, so wurden mit den den Wurmmitteln Nr. 6 bis 8 zugrunde gelegten Drogenpulvern nur orientierende Versuche angestellt. Es ergaben sich Werte, die innerhalb der Fehlergrenzen mit dem für die offizinelle Droge gefundenen Werte übereinstimmten.

In dem untersuchten Arekanußpulver DAB. 6 wurden von Herrn Dr. Merz im Pharmazeutischen Institut der Universität Berlin, der in dankenswerter Weise das Pulver nach der Vorschrift des DAB. 6 analysierte, 0,44% Gesamtalkaloide gefunden. Die Übereinstimmung der chemischen und der biologischen Prüfung war also vorzüglich.

III.

Durch das beschriebene Verfahren wurde der Gehalt der Präparate an relativ gut extrahierbaren, auf die Darmmotorik wirkenden Stoffen bestimmt. Es ist jedoch ungewiß, ob bei der peroralen Applikation dieser Mittel dieselben Inhaltsstoffe zur Wirkung kommen. Bei der Testung wurden die Substanzen erfaßt, die im Gange einer schematischen Methode unversehrt extrahiert werden können. Im Darm des lebenden Menschen dagegen wird nur das wirken, was durch die Darmsäfte in Freiheit gesetzt und leicht resorbiert werden kann. Besonders muß man bei dem großen Gerbstoffgehalt der Droge (18) an weitgehende Resorptionshinderung denken (6), worauf wohl auch die verschiedene Bewertung von Droge und Alkaloid bezüglich ihrer Toxizität zurückzuführen ist.

Zur Klärung dieser Frage bot sich die Methode von Oettel (19), die es ermöglicht, die durch enteral applizierte Pharmaca veränderte Leistung einer normalen, an der Verdauung beteiligten Dünndarmstrecke des nichtnarkotisierten Hundes in einem festen Bezugssystem zu registrieren.

Methodik. Einem Hunde ist eine Y-Dünndarmfistel angelegt. An einem dünnen Schlauch wird ein etwa 4 cm langer Gummiballon durch den seitlichen Zugang in den normalen Dünndarm des nüchternen Tieres eingeführt. Der Innenraum des Ballons steht durch die Luftsäule im Schlauch mit einem Wassermanometer in Verbindung. Ein an denselben Schlauch fixierter dünner Gummikatheter liegt mit seiner vorderen Öffnung in unmittelbarer Nähe des Ballons. Das Manometer registriert die normale Darmarbeit sowie deren Veränderungen durch Pharmaca, welche mittels des Katheters an die untersuchte Darmstrecke gebracht werden. — Es besteht die Möglichkeit, die Luftmenge im System beliebig oft um 10 ccm zu vermehren und wieder zu vermindern. Hierdurch wechseln Zeitabschnitte, während derer der geblähte Ballon als Füllungsreiz auf den Darm wirkt, mit solchen

ab, in denen bei kollabiertem Ballon die Muskulatur sich erholt, sowie etwa oberhalb des Ballons gestauter Darminhalt weiterbefördert werden kann.

Für die Möglichkeit von Auswertungen ist hierbei wichtig, daß Veränderungen der Darmmotorik nicht qualitativ, sondern quantitativ aufgezeichnet werden.

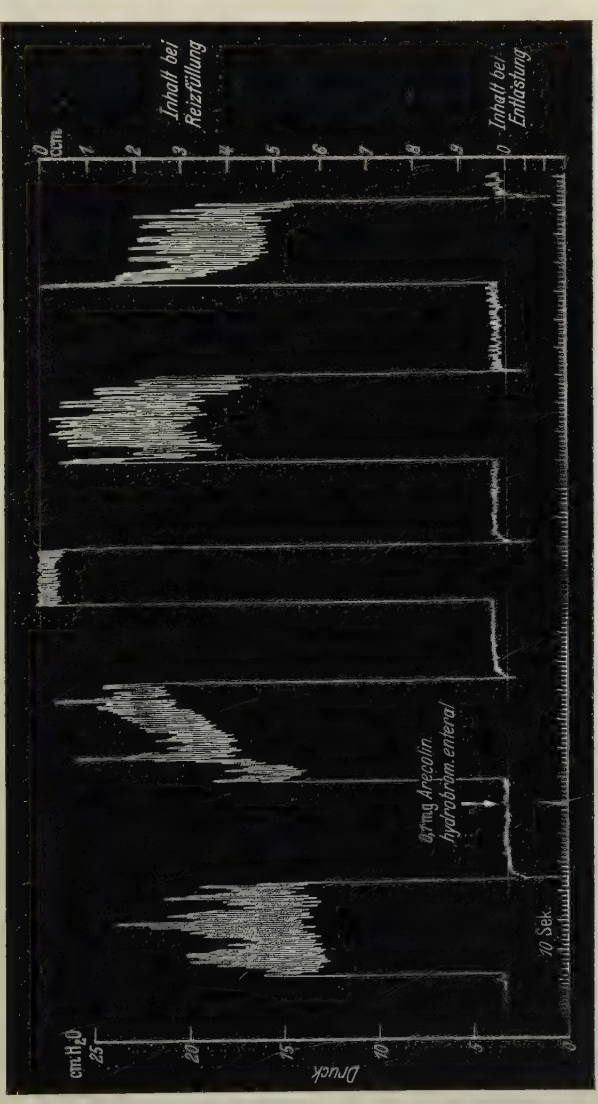


Abb. 2. Arecolinwirkung am Darm des Fistelhundes.

Aus der kurvenmäßigen Darstellung ist für jeden beliebigen Zeitpunkt des Versuchs der Inhalt der Ballonsonde sowie der Druck, den die Darmmuskulatur auf diese ausübt, abzulesen. So können Wirkungsbilder aus zahlreichen Versuchen auch bezüglich quantitativer Unterschiede miteinander verglichen werden.

Die durch größere Mengen Arecolin erzeugte Wirkung ist mit dieser Methode bereits studiert worden (19). Die Wirkung war ein sofort einsetzender, energischer Spasmus, der gefolgt war von unregelmäßigen, kolikartigen Darmkontraktionen. Oft trat dann eine sekundäre Lähmung auf. — Ausgehend von den dabei angewendeten Mengen der Größenordnung 1 mg wurde in absteigender Dosierung diejenige Menge gesucht, die eben noch einen kurzdauernden Spasmus erzeugte. Sie wurde als schwankend zwischen 100 und 150 γ Arecolinhydrobromid festgestellt. Die entsprechende Wirkung (Abb. 2) ist folgendermaßen zu charakterisieren: 1—2 Minuten nach Applikation der Arecolinlösung steigt der Tonus des Darms bei gleichzeitiger Verminderung der Schöpfarbeit innerhalb von 3—4 Minuten bis zum Spasmus an. Dieser ist dadurch gekennzeichnet, daß bei der „Systole" des Darms der Inhalt des Registrierballons restlos ausgepreßt ist, während die „Djastole" ein Zurückströmen von höchstens 1 ccm Luft in den Ballon gestattet. Nach Beendigung des spastischen Zustandes fällt der Tonus innerhalb von etwa 10 Minuten langsam ab, so daß das gesamte Wirkungsbild nach rund 20 Minuten abgeklungen ist.

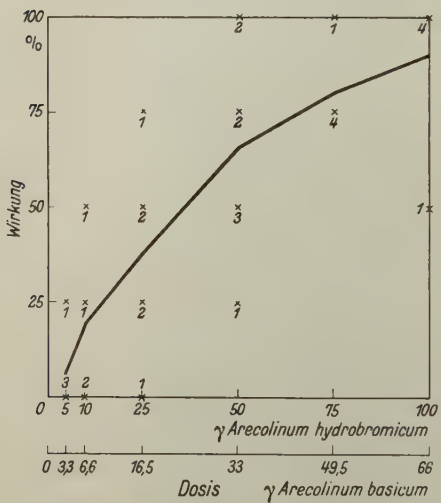


Abb. 3. Dosiswirkungskurve aus den Versuchen mit Arecolinhydrobromid am Darm des Fistelhundes. — Die Zahlen bei den Kreuzen bezeichnen die Anzahl der Versuche.

Es zeigte sich, daß Bruchteile der kleinsten spasmuserzeugenden Dosis ihrer Menge entsprechende kurzdauernde Wirkungen auf den Darmtonus entfalteten. Zwischen das Ausbleiben jeglicher Beeinflussung und den vollkommenen Spasmus ließen sich drei abgestufte Wirkungsgrade einschalten, die als 25, 50 und 75 % des Spasmus bezeichnet wurden; sie entsprachen einem eben erkennbaren schwachen, einem deutlich ausgesprochenen, sowie einem starken, doch rasch abklingenden Tonusanstieg.

Ähnlich wie es bei Toxizitätsbestimmungen üblich ist, wurden nun mit verschiedenen Dosen von Arecolin je eine Reihe von Versuchen angestellt. Abb. 3 zeigt in einem Koordinatensystem die mit den verschiedenen Mengen ausgeführten Versuche und deren Verteilung auf die Wirkungsgrade, denen sie zugeordnet werden mußten. Dadurch wird der Grad der Streuung ersichtlich. Für die Dosisstufen ließen sich unter Berücksichtigung der Einzelergebnisse Durchschnittswerte berechnen, auf Grund derer eine Dosiswirkungskurve konstruiert werden konnte (Abb. 3).

Auch für Arekanußpulver, das in Form einer Aufschwemmung appliziert wurde, konnte eine „Dosiswirkungskurve" am Darm des Hundes aufgestellt werden. Dabei konnte in weit über 100 Versuchen kein wesentlicher Unterschied des Wirkungsbildes gegenüber gleichwertigen Mengen Arecolin

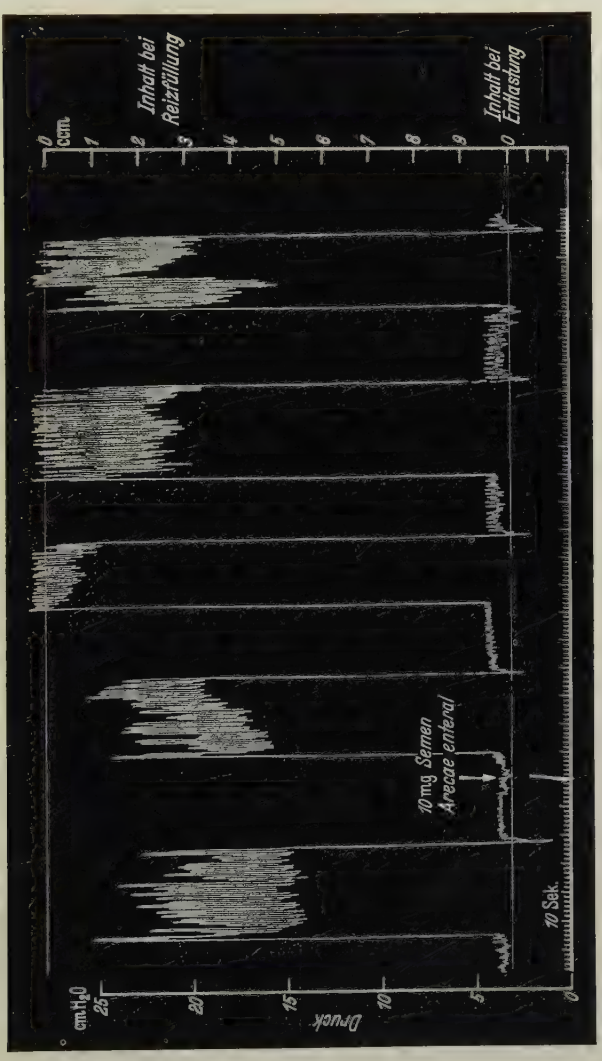


Abb. 4. Arekanußwirkung am Darm des Fistelhundes.

gesehen werden. Insbesondere trat die Wirkung des Arecolins bei Applikation in Form der Droge nicht verzögert ein; auch durch die Droge wird nämlich, wie durch das Reinalkaloid, das Maximum der Wirkung nach 5 Minuten erreicht. — Der unteren Grenzdosis von 0,1 mg Arecolinhydro-

bromid entsprachen in der Wirkung etwa 10 mg Semen Arecae (vgl. z. B. Abb. 4).

Die graphische Darstellung der Ergebnisse aus den Versuchen mit der Droge (Abb. 5) zeigt die gute Vergleichbarkeit der Dosiswirkungskurven für Arecolin und Arekanuß. Aus ihnen konnte auf einen Gehalt der Droge an darmwirksamen, dem Arecolin gleichwertigen Stoffen von etwa 0,60 % geschlossen werden.

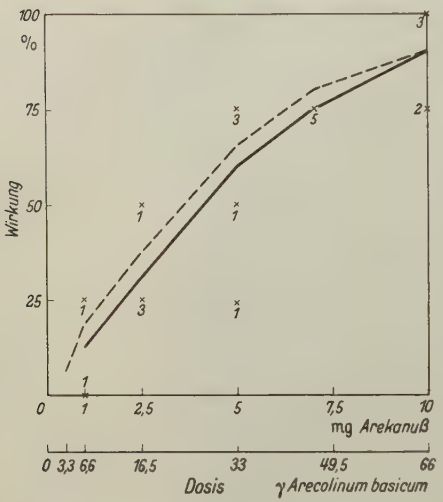


Abb. 5. Dosiswirkungskurve von Semen Arecae DAB. 6 bei Auswertung am Fistelhund (enterale Gabe). Dosiswirkungskurve von Arecolinhydrobromid (gestrichelt — aus Abb. 3) zum Vergleich.

IV.

In analoger Weise wurden darauf wässerige Aufschwemmungen der zur Untersuchung herangezogenen Wurmmittel geprüft. Die Ergebnisse dieser Versuchsreihe sind in den Abb. 6 bis 10 aufgezeichnet. Auch hier konnte vermittels der Dosiswirkungskurven der jeweilige Gehalt an wirksamen Stoffen errechnet werden.

Die Präparate Nr. 4 und 5 konnten aus äußeren Gründen nicht in dem vollen Mengenbereich, wie er ihrem geringen Alkaloidgehalt entsprochen hätte, untersucht werden. Die Endergebnisse können daher nicht in dem Maße Anspruch auf Zuverlässigkeit erheben wie es für die anderen Untersuchungsobjekte der Fall ist.

Die Tabelle 2 enthält eine Gegenüberstellung der Ergebnisse aus den beiden Auswertungsverfahren.

Tabelle 2.

Untersuchungsobjekt:	Isolierter Meerschweinchendarm. Gehalt an extrahierbaren, gleich Arecolin darmwirksamen Stoffen, berechnet auf das Molekulargewicht des Arecolins: %	Fistelmethode nach Oettel. Gehalt an leicht resorbierbaren, gleich Arecolin darmwirksamen Stoffen, berechnet auf das Molekulargewicht des Arecolins: %	Mehrausbeute der Auswertungen an der Fistel: %
Arekanus DAB.	0,45	0,600	33
Präparat Nr. 1..	0,10	0,132	32
„ „ 2..	0,05	0,067	34
„ „ 3..	0,03	0,044	47
„ „ 4..	0,02	0,025	25
„ „ 5..	0,01	0,013	30

Zu den unter „Mehrausbeute“ für die Präparate Nr. 4 und 5 angeführten Werten ist zu bemerken, daß sich die Ergebnisse der beiden Methoden hier nicht sicher voneinander abgrenzen ließen. Dies beruht einerseits auf der zahlenmäßig zu geringen Auswertung an der Fistel, andererseits auf den gegebenen Fehlergrenzen beider Testungsmethoden.

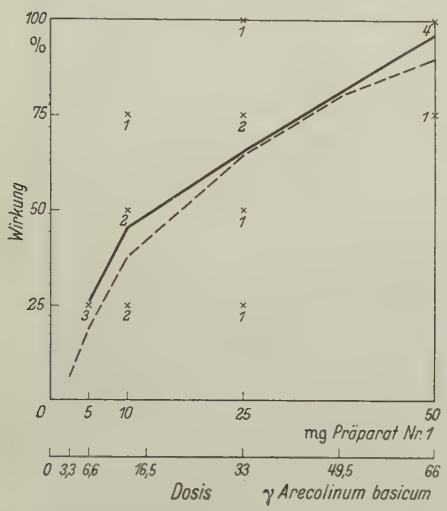


Abb. 6. Dosiswirkungskurve von Präparat Nr. 1 bei Auswertung am Fistelhund (enterale Gabe). Dosiswirkungskurve von Arecolinhydrobromid (gestrichelt — aus Abb. 3) zum Vergleich.

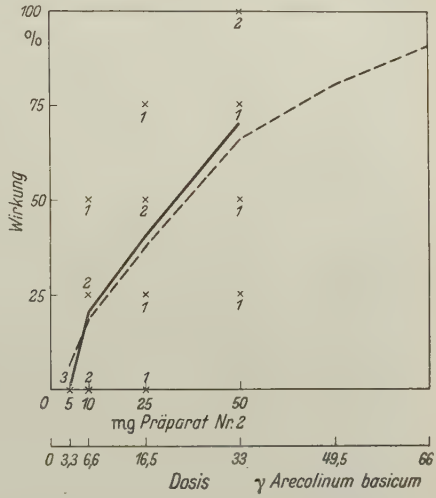


Abb. 7. Dosiswirkungskurve von Präparat Nr. 2 bei Auswertung am Fistelhund (enterale Gabe). Dosiswirkungskurve von Arecolinhydrobromid (gestrichelt — aus Abb. 3) zum Vergleich.

V.

An Hand aller Ergebnisse der Alkaloidbestimmungen kann zunächst ausgesagt werden, daß die Resorption des Arecolins aus der Droge im Magendarmkanal rasch und vollkommen erfolgt. — Dies steht im Widerspruch zu den Behauptungen Bombelons (20), wonach das Arecolin, das er „Arekan“ nannte, in der Betelnuß als völlig wasserunlösliches Tannat vorhanden sein soll. Hierzu kann wohl angenommen werden, daß Bombelon in seinem Arekan keine reine Substanz vor sich hatte. — Über ein Arecolintannat ist später nichts berichtet worden. Im Reagensglasversuch ist es nicht möglich, ein schwerlösliches Arecolintannat zu erhalten. In 1 ccm einer 5%igen wässerigen Lösung von Arecolinhydrobromid ruft eine 5%ige Gerbsäurelösung keine Fällung hervor (DAB. 6).

Weiterhin sei die Identifizierung der bei den verschiedenen Methoden erfaßten Alkaloide versucht. Hier ist zunächst auffällig die Übereinstimmung der Werte, die für die untersuchte offizinelle Droge durch die chemische Bestimmungsmethode wie durch biologische Auswertung des Extraktes gefunden wurden. Da das Extraktionsverfahren der chemischen

Methode nachgebildet worden war, kann angenommen werden, daß dieselben Stoffe titriert bzw. ausgewertet wurden. Dabei kann es sich jedoch nur um Arecolin selbst handeln, da einerseits der Äther bei alkalischer Reaktion nur die Esteralkaloide aufnimmt (21), andererseits das Guvacolin wegen seiner sehr leichten Zersetzlichkeit (22) kaum bis zur Beendigung des Verfahrens erhalten bleiben dürfte. Auch zeigte das durch Extraktion gewonnene Gesamtalkaloid am isolierten Darm keinerlei qualitative Unterschiede gegenüber dem Arecolin (Abb. 1). In besonderen Versuchen wurde am isolierten Meerschweinchendarm das bisher in seiner physiologischen Wirksamkeit unbekannte Guvacolin geprüft. Dabei erwies es sich im qualitativen Wirkungstypus als wenig, doch deutlich verschieden

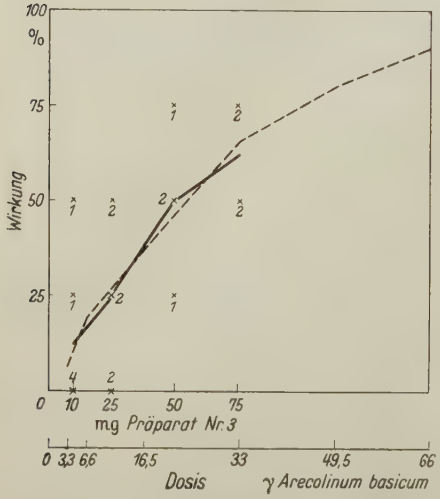


Abb. 8. Dosiswirkungskurve von Präparat Nr. 3 bei Auswertung am Fistelhund (enterale Gabe). Dosiswirkungskurve von Arecolinhydrobromid (gestrichelt — aus Abb. 3) zum Vergleich.

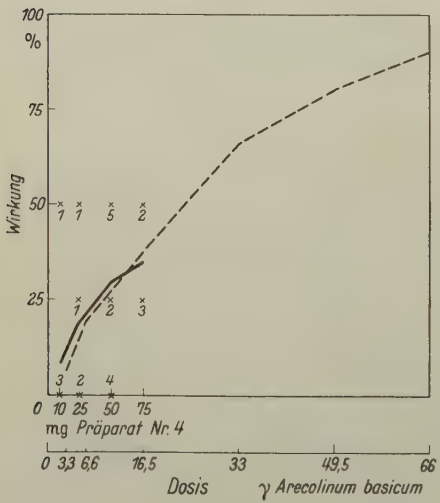


Abb. 9. Dosiswirkungskurve von Präparat Nr. 4 bei Auswertung am Fistelhund (enterale Gabe). Dosiswirkungskurve von Arecolinhydrobromid (gestrichelt — aus Abb. 3) zum Vergleich.

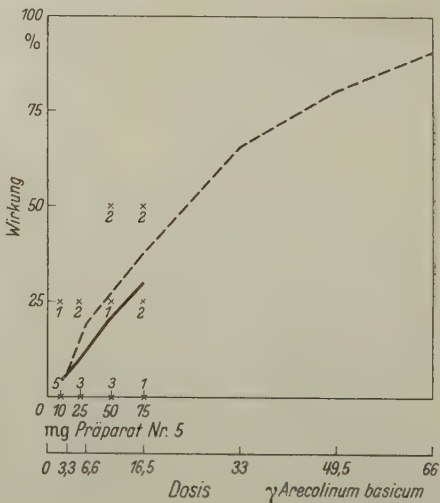


Abb. 10. Dosiswirkungskurve von Präparat Nr. 5 bei Auswertung am Fistelhund (enterale Gabe). Dosiswirkungskurve von Arecolinhydrobromid (gestrichelt — aus Abb. 3) zum Vergleich.

vom Arecolin; die Tonussteigerung trat nämlich im Gegensatz zum Arecolin langsamer ein (vgl. Abb. 11).

Aus einer Gegenüberstellung der Ergebnisse beider Auswertungsmethoden (vgl. Tabelle 2) wird durchweg eine Mehrausbeute an darmwirksamen Inhaltsstoffen bei der Testierung am Dünndarmfistelhund deutlich; die Differenzen weichen nur unwesentlich von dem Durchschnittswert 33 % ab. Zur Erklärung des Unterschiedes bestehen mehrere Möglichkeiten:

1. Partielle Verseifung des Arecolins zu Arecaidin im Gange des Extraktionsverfahrens? — Gegen diese Erklärungsmöglichkeit spricht das Ergebnis der Kontrollversuche, in denen bei gründlicher und vorsichtiger Extraktion bekannte Mengen Arecolin quantitativ wiedergewonnen werden konnten.

2. Darmwirksamkeit der bei der Extraktion nicht erfaßten Alkaloidsäuren Arecaidin und Guvacin? — Marmé (24) applizierte Pflanzen- und

Abb. 11. Vergleich der Wirkungen von Arecolin und Guvacolin am isolierten Meerschweinchendarm.

Fleischfressern bis zu 0,5 g Arecain (= Arecaidin) subcutan. Es zeigten sich keinerlei Erscheinungen. Für das Guvacin, das zum Unterschied vom Arecaidin der N-ständigen Methylgruppe entbehrt, gilt dasselbe (4). Zudem ist es fraglich, ob Arecaidin und Guvacin überhaupt in der Arekanuß vorkommen. Freudenberg (23) schreibt: „Nachdem — neben dem Cholin — das Arecolin und der Guvacinmethylester (= Guvacolin) als die hauptsächlichen Alkaloide der Arekanuß erkannt sind, ist es mehr als zuvor fraglich, ob die ihnen zugrunde liegenden Säuren, das Arecaidin und das Guvacin, in den Nüssen frei vorkommen. Jahns gibt zwar an, daß er das Arecaidin durch eigens dafür angestellte Versuche als selbständiges Alkaloid festgestellt hat, aber er beschreibt diese Versuche nicht. Da er bei der Darstellung der Alkaloide die verdünnte schwefelsaure Lösung eindampft, ist es möglich, daß das gesamte, von ihm isolierte Arecaidin und Guvacin aus den zugehörigen Methylestern stammt."

3. Darmwirksamkeit des Guvacolins, das nach den bisherigen Erfahrungen (22) bei der Ätherextraktion weitgehend, wenn nicht völlig verseift sein mußte? — Das Guvacolin wurde uns in Form des Hydrobromids von der Firma E. Merck, Darmstadt, die es 1918 erstmalig dar-

stellte, in dankenswerter Weise zur Verfügung gestellt. Es konnte am isolierten Meerschweinchendarm in seiner quantitativen Wirkung auf den Darmtonus als dem Arecolin praktisch gleichwertig erkannt werden (Abb. 11). Das von ihm am Darm des Fistelhundes erzeugte Wirkungsbild im Vergleich und — die Verhältnisse der Droge nachahmend — in Kombination mit Arecolin muß späteren Untersuchungen vorbehalten bleiben.

Es darf angenommen werden, daß für die physiologische Wirksamkeit bei den Areka-Alkaloiden der Estercharakter ausschlaggebend ist. Dieser ist dem Arecolin wie dem Guvacolin eigen. Der Mangel der N-ständigen Methylgruppe im Guvacolin hebt die Wirkung am Darm nicht auf.

Es ist also wahrscheinlich, daß die höhere Wirkung der Droge und ihrer Zubereitungen am Darmfistelhunde auf der Resorption unverseiften Guvacolins beruht.

VI. Diskussion.

Für die Beurteilung der Möglichkeit von Schädigungen durch die untersuchten Wurmmittel darf das Auswertungsergebnis der Fistelmethode zugrunde gelegt werden. Im Vergleich mit der exakter arbeitenden anderen Methode zeigte sich ihre Brauchbarkeit; doch scheint sie bessere Einblicke in den tatsächlichen Gehalt an wirksamen Substanzen zu geben.

Die bei Einhaltung der den Mitteln beigegebenen Gebrauchsanweisungen (siehe S. 391) zur Anwendung kommenden Mengen an Alkaloiden sind, bezogen auf Arecolinwirksamkeit, in der Tab. 3 zusammengefaßt. Für die drei Mittel, denen die reine pulverisierte Arekanuß beigegeben worden war, war der für die offizinelle Droge gefundene Wert maßgebend, da am isolierten Meerschweinchendarm wie am Darm des Fistelhundes für die verschiedenen Drogenpulver keine außerhalb der Fehlergrenzen liegende Wirkungsdifferenz festgestellt werden konnte.

Tabelle 3.

	Laut Gebrauchsanweisung kämen (pro die) folgende Mengen Alkaloid zur Anwendung:	In einer Originalpackung sind folgende Alkaloidmengen enthalten:
Präparat Nr. 1	2,64 mg (Kinderdosis)	26,4 mg (!)
„ „ 2	6,70 „	13,4 „
„ „ 3	6,60—7,92 mg	15,8 „
„ „ 4	1,30 mg	12,5 „
„ „ 5	0,78 „	3,12 „
„ „ 6	24 mg pro die et dosi	48 mg
„ „ 7	66 „ „ „ „ „	66 „
„ „ 8	30 „ „ „ „ „	60 „

Die Alkaloidmengen in den Präparaten Nr. 1 bis 5 scheinen ungefährlich, da zur Entstehung des bekannten Vergiftungsbildes (6) 48 mg Alkaloide (enthalten in 8 g Semen Arecae) notwendig waren. Während aber die Inhaltsstoffe dieser Präparate restlos resorbiert werden können, ist die Ausnutzung der Arekapulver (Nr. 6, 7 und 8) mehr oder weniger durch das kurze Zeit später verabfolgte Rizinusöl beschränkt. So ist dem Mittel

Nr. 7, dessen Dosierung als durchaus bedenklich zu bezeichnen ist (Tabelle 3), vorsorglich eine besonders große Menge Rizinusöl beigegeben (siehe S. 402).

Die Tatsache, daß Vergiftungen mit Wurmmitteln, wie sie die untersuchten Präparate Nr. 6 bis 8 darstellen, bisher nicht bekannt geworden sind, ist vielleicht auf die Beigabe jenes Dünndarmabführmittels zurückzuführen. Im Gegensatz dazu war in dem von Oettel (6) beschriebenen Falle ein Dickdarmabführmittel gegeben worden, so daß die Alkaloide aus dem applizierten Drogenpulver ohne Verlust zur Resorption kommen konnten. Außerdem muß angenommen werden, daß häufig ein Teil des eingenommenen Mittels wie beim Tier (1) so auch beim Menschen erbrochen werden wird. Weiterhin ist an Verseifung des Arecolins unter dem Einfluß der Magensalzsäure zu denken.

Die Anwendung arekanußhaltiger Wurmmittel ist jedoch trotzdem in der Humanmedizin abzulehnen. Barclay (7), der als erster und einziger (!) die Möglichkeit der Bandwurmabtreibung beim Menschen mit Arekanuß studierte, fand, daß eine Menge von rund 20 g notwendig sei. Damit kommen jedoch etwa 120 mg Alkaloid zur Anwendung, die stets eine Vergiftungsgefahr bedingen. Die leichte Resorbierbarkeit der wirksamen Substanzen aus der Arekanuß läßt sich zudem mit den Anforderungen, die man definitionsgemäß an ein Anthelminthicum stellen muß, nicht vereinbaren, denn die Wirkung muß ja innerhalb des Darmlumens zustande kommen.

Es wäre also dringend erforderlich, daß nicht nur die Arekanuß selbst bei dem relativ hohen Gehalt des stark wirkenden, leicht resorbierbaren Alkaloids unter Rezeptzwang gestellt wird, sondern, daß auch die arekanußhaltigen Wurmmittel dem freien Verkauf in Apotheken und besonders Drogerien entzogen werden, wenigstens soweit ein bestimmter Höchstgehalt von Arekanuß bzw. Arecolin überschritten wird.

Zusammenfassung.

1. In Semen Arecae DAB. 6 wurden durch Auswertung am isolierten Meerschweinchendarm 0,45% Gesamtalkaloide gefunden. Auswertung am Oettelschen Fistelhund ergab eine Ausbeute von 0,60%, also 33% des Wertes mehr.

2. Arekanußhaltige Wurmmittel zeigten bei Auswertung am isolierten Darm 0,01 bis 0,10% Alkaloidgehalt. Am Fistelhund resultierten ebenfalls um rund 33% höhere Werte.

3. An der Darmwirkung scheint das schwer unzersetzt extrahierbare, in seiner physiologischen Wirksamkeit bisher unbekannte Nebenalkaloid Guvacolin beteiligt zu sein.

4. Der Gedanke einer erschwerten Resorption des Arecolins aus der Droge ist auf Grund der an der Dünndarmfistel gewonnenen Erfahrungen abzulehnen.

5. Es wird Rezeptzwang gefordert für Arekanuß sowie für Wurmmittel, deren Gehalt an Arekanuß einen gewissen Prozentsatz überschreitet.

Literatur.

1) Fröhner: Arzneimittellehre, S. 179. Stuttgart 1919. — 2) Rusvay: Jber. Vet. Med. **51**, II, 1229 (1931). — 3) Veenendaal: Tierärztl. Rdsch. **30**, 239 (1924). — 4) Winterstein-Trier: Die Alkaloide I, 251ff. Berlin 1931. — 5) Stefánsson: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **185**, 429 (1937). — 6) Oettel: Dtsch. Apoth.-Ztg. **1933**, S. 1457. — 7) Barclay: Brit. med. J. **1861**, II, 203. — 8) Lewin: Areca catechu, S. 84. Stuttgart 1889. — 9) Cloetta-Filehne: Arzneimittellehre, S. 328. Tübingen 1901. — 10) Ther. Mh. **1890**, S. 291. — 11) Klemperer-Rost: Arzneiverordnung, S. 169. Berlin 1929. — 12) Jahns: Ber. dtsch. chem. Ges. **21**, II, 3404 (1888). — 13) Starkenstein: Toxikologie, S. 425. Berlin 1929. — 14) Hartwich: Genußmittel, S. 569ff. Leipzig 1911. — 15) Reutter: Schweiz. Apoth.-Ztg. **56**, 668 (1918). — 16) Tschirsch: Handb. d. Pharmakognosie III, 228, Leipzig 1923. — 17) Pätz: Arch. erper. Path. u. Ther. **7**, 577 (1910). — 18) Heffter: Handb. erper. Pharmak. II (2), 813. Berlin 1924. — 19) Oettel: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **175**, 588 (1934). — 20) Bombelon: Pharmaz. Ztg. **34**, 122 (1889). — 21) Wasicky: Physiopharmakognosie, S. 359. Wien 1932. — 22) Hess: Ber. dtsch. chem. Ges. **51** (I), 1004ff. (1918). — 23) Freudenberg: Ebenda **51** (II), 1676 (1918). — 24) Marmé: Pharmaz. Ztg. **34**, 97 (1889).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität München.

Über die Wirkung der Solanaceenalkaloide unter Berücksichtigung ihrer optischen Isomerie und ihrer Spaltprodukte.

Von

A. W. Forst und Zengo Kanda.

(Eingegangen am 20. Februar 1939.)

Die pharmakologischen Wirkungen der zur Gruppe des Atropins gehörenden Alkaloide sind mit der näheren Kenntnis ihres chemischen Aufbaues immer genauer bekannt geworden. Nach der Entdeckung von Ladenburg, daß Atropin und Hyoscyamin optische Isomere sind, hat zuerst Cushny grundlegende Arbeiten über die Pharmakologie dieser beiden Alkaloide und ihrer verwandten Substanzen veröffentlicht. Nach Cushny[1, 2] sollen l-Hyoscyamin und l-Scopolamin (l-Hyoscin) in ihrer parasympathicolytischen Wirkung doppelt so stark wirksam sein als ihre optisch inaktiven Isomeren. Dagegen sollen die übrigen Wirkungen der beiden Isomeren nicht in dem gleichen Verhältnis der Wirkungsstärke zueinander stehen. Atropin erhöht am Frosch die Reflexerregbarkeit, l-Hyoscyamin hat dagegen diese Wirkung nicht. An der weißen Maus fand Cushny keinen Unterschied zwischen den allgemeinen Wirkungen dieser beiden Alkaloide. Sie wurden nach subcutaner Injektion von 0,3 bis 2,0 mg/g Atropin bzw. l-Hyoscyamin geprüft, wobei Dosen von 0,3—0,4 mg/g keine eindeutige Wirkung entfalteten. Höhere Dosen von 0,65—0,8 mg/g erzeugten eine Vergiftung von 15—20 Stunden Dauer, 1,3—1,6 mg/g waren tödlich. Die ersten nach 30—45 Minuten auftretenden Symptome bestanden nach Cushny in allgemeiner schwacher Dämpfung, Herabsetzung der spontanen Beweglichkeit, leichtem Tremor und Muskelschwäche.

Die Alkaloide l-Scopolamin und das entsprechende Racemat (r-Hyoscin) wirkten am Frosch und an der Maus ungefähr gleich. Später hat Cushny[3] festgestellt, daß Atropin an der Speicheldrüse des Hundes sowie am Herzvagus 20mal stärker wirkt als d-Hyoscyamin, woraus für das Verhältnis der Wirkung von l-Hyoscyamin zu d-Hyoscyamin 40 : 1 errechnet wurde. l-Scopolamin erwies sich an der Speichelsekretion des Hundes 16—18mal stärker als d-Scopolamin (d-Hyoscin). Cushny hat diese Ergebnisse

---

[1] Cushny: J. Physiol. (Brit.) **30**, 176 (1904). — [2] Cushny u. Peebles: Ebenda **32**, 501 (1905). — [3] Cushny: J. Pharmacol. (Am.) **15**, 105 (1919); **17**, 41 (1921).

damit zu erklären versucht, daß einige Organe optisch isomere Stoffe unterscheiden können, während anderen Organen diese Fähigkeit abgehen soll.

Die von Cushny angegebenen Quotienten für die Wirksamkeit der verschiedenen Isomeren konnte von anderen Untersuchern nicht durchwegs bestätigt werden (Laidlaw[4], Hug[5], Cushny[6], Cloetta[7]). In neuerer Zeit konnte Susanna[8] keine Unterschiede in der zentralerregenden sowie in der parasympathicolytischen Wirkung von l- und d-Hyoscyamin finden und erklärt die Ergebnisse von Cushny und von Laidlaw mit der Verwendung unreiner Präparate. Für das Scopolamin wurden die Befunde Cushnys durch Chassar Moir[9] bestätigt. Er fand bei Erregungszuständen verschiedener Art am Menschen nur das l-Scopolamin beruhigend, nicht dagegen das d-Scopolamin (d-Hyoscin). Zum „Dämmerschlaf" in Kombination mit Morfin war nur das l-Scopolamin brauchbar, das d-Produkt dagegen vollkommen wirkungslos.

Wir haben zunächst die zentrale Wirkung dieser Alkaloide nachgeprüft mittels der von Forst[10] angegebenen Methode. Diese Methode der Motilitätsregistrierung an weißen Mäusen ist zwar nicht als quantitative geschaffen, es wurde jedoch versucht, die erhaltenen Rußbilder vergleichend zu schätzen und die Motilitätsgröße in Zahlen auszudrücken. Wegen der individuell verschiedenen Lebhaftigkeit normaler Tiere wurde ein größeres Tiermaterial herangezogen.

Die Untersuchungen wurden angestellt mit l-Hyoscyaminhydrobromid (1 g = 0,78 g Base), d-Hyoscyamincamphosulfonat (1 g = 0,5 g Base), Atropinsulfat (1 g = 0,83 g Base), l-Scopolaminbromcamphosulfonat (1 g = 0,49 g Base) mit dem entsprechenden rechtsdrehenden Alkaloid, sowie mit einer Mischung von d- und l-Scopolaminsalz.

Vom l-Hyoscyaminhydrobromid setzen 200—600 γ/g in der Regel die spontane Bewegung herab. Diese Dosen sind jedoch schon toxisch und führen mitunter zu Krämpfen. 10—100 γ/g wirkten nur in Einzelfällen beruhigend, verursachten dagegen oft zwangsläufige Manegebewegung, die als Erregungserscheinung zu deuten ist. Das entsprechende Rechtsprodukt sowie das Racemprodukt wirkten kaum anders. 100—600 γ/g d-Hyoscyaminsalz entfalteten nur geringe sedative Wirkung. Krämpfe traten hier schon bei kleineren Dosen ein als beim l-Hyoscyamin. Die kleinsten Dosen verursachten keine deutlichen Erscheinungen. Atropinsulfat in Dosen von 10—400 γ/g führte nur in zwei Fällen zu ausgesprochener Beruhigung; in allen anderen Fällen war es ohne eindeutige Wirkung.

[4] Laidlaw: Siehe bei Barrowcliff u. Tutin: J. Chem. Soc. **95**, 1966 (1909). — [5] Hug: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **69**, 45 (1912) — [6] Cushny: Ebenda **70**, 433 (1912). — [7] Cloetta: Ebenda **71**, 290 (1913). — [8] Susanna: Fisiol. e Med. **1**, 551 (1930). — [9] Moir, Chassar: Brit. med. J. **1925**, II, S. 514. — [10] Forst: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **189**, 288 (1938).

l-Scopolaminbromcamphosulfonat führte in Dosen von 0,1—400 γ/g zu uneinheitlichen Ergebnissen. In einigen Fällen wurde Beruhigung, in den meisten dagegen Erregung beobachtet. Das entsprechende d-Isomere in Dosen von 0,01—400 γ/g rief meist Manegebewegung hervor, jedoch niemals deutliche Beruhigung. 0,1—100 γ/g l + d-Hyoscyaminbromcamphosulfonat äußerte keinen merklichen Einfluß auf die spontane Bewegung. Aus diesen Ergebnissen kann geschlossen werden, daß Hyoscyamin, Scopolamin sowie ihre Isomeren auf die spontane Bewegung der Maus wenig sedativen Einfluß haben mit Ausnahme sehr hoher Dosen. Dies stimmt mit den Ergebnissen von Storm van Leeuwen und Szent Gyoergy[11] sowie von Mehes[12], daß Scopolamin bei manchen Tierarten keine sichtliche Beruhigung herbeiführt, überein.

Zum Vergleich der parasympathicolytischen Wirkungen von Atropin und seinen Verwandten sowie von den Scopolaminen wurde deren mydriatische Wirkung an der Maus nach Pulewka[13] bestimmt. Die Alkaloide wurden subcutan gegeben und der Durchmesser der Pupille wurde mittels Okularmikrometer gemessen. An der normalen Maus war dieser meistens 0,44 mm. Mäuse, die von Anfang an größere Pupillen hatten, wurden nicht gebraucht. Die Empfindlichkeit der Pupille für die Alkaloide war individuell verschieden. Darum wurde jede Bestimmung an mehreren Tieren wiederholt. Die Pupillengröße wurde vor, sowie 5, 15, 30, 60, 90 und 120 Minuten nach der Injektion gemessen. Das Maximum der Wirkung war nach 30 Minuten erreicht.

Der Mittelwert der Pupillengröße, die an 12 Mäusen 30 Minuten nach der Injektion von 0,05 γ/g l-Hyoscyaminhydrobromid bestimmt wurde, betrug 1,77 mm. Der Mittelwert, der durch die Injektion von 3 γ/g d-Hyoscyamincamphosulfat an 12 Tieren gewonnen wurde, war 1,88 mm. Die Differenz von 0,11 mm liegt innerhalb der Fehlergrenze. Es entfalten demnach 0,05 γ/g l-Hyoscyaminhydrobromid eine ebenso starke mydriatische Wirkung wie 3 γ/g d-Hyoscyamincamphosulfonat. Dieses Dosenverhältnis auf die reinen Alkaloidbasen bezogen, 1 : 40, entspricht dem von Cushny an der Speichelsekretion des Hundes ermittelten. Der Mittelwert der Pupillengröße nach der Injektion von 0,1 γ/g Atropinsulfat war 2,13 mm. Dies deckt sich gut mit den von Pulewka[13] gefundenen Werten. Die Wirkung des l-Hyoscyamins wird also durch die doppelte Dosis Atropin etwas übertroffen.

Auf gleiche Weise wurden 0,05 γ/g l-Scopolaminbromcamphosulfonat mit 0,5 γ/g d-Scopolamin (d-Hyoscin) ebenfalls als Bromcamphosulfonat verglichen. Die Mittelwerte der Pupillengröße von je 12 Mäusen 30 Minuten nach der l- bzw. d-Scopolaminsalzinjektion waren 2,20 bzw. 2,25 mm.

---

[11] van Leeuwen, Storm u. Szent Gyoergy: J. Pharmacol. (Am.) **18**, 494 (1922). — [12] Mehes: Wien. klin. Wschr. **39**, 962 (1926); Naunyn-Schmiedebergs Arch. **142**, 309 (1929). — [13] Pulewka: Ebenda **168**, 307 (1932).

Die Wirksamkeit von l- und d-Scopolamin auf die Pupille verhält sich somit wie 10 : 1. Cushny[3] hatte für dieses Stärkeverhältnis bei der Wirkung auf die Speichelsekretion des Hundes 16—18 : 1 und bei der antagonistischen Wirkung gegen Pilocarpin am Kaninchendarm 15 : 1 gefunden.

Vergleicht man die mydriatische Wirkung von l-Scopolaminbromcamphosulfonat mit der von Atropinsulfat, so ergibt sich für die reinen Basen ein Stärkeverhältnis von 3,5 : 1. Joachimoglu[14] hatte an der Katze bei direkter Applikation am Auge ein Verhältnis 10 : 1 gefunden, und Pulewka gibt an, daß l-Scopolamin an der Pupille 5—10mal so wirksam sei wie Atropin.

Sowohl Hyoscyamin wie auch Scopolamin werden in alkalischer Lösung leicht hydrolysiert; die entstandenen Spaltprodukte haben nach Garrod[15] sowie Harley[16] keine mydriatische Wirkung mehr. Der zeitliche Verlauf der Spaltung dieser Alkaloide und ihrer Isomeren in vitro wurde nach dem mydriatischen Einfluß der Alkaloidlösungen bemessen, nachdem diese einer verschieden langen Alkalieinwirkung ausgesetzt waren. Die injizierten Dosen richteten sich nach den zuvor angegebenen und in ihrer Wirksamkeit bestimmten.

Das Ergebnis war folgendes. Die zu je einem Volumenteil aus einer 0,001 %igen l-Hyoscyaminhydrobromidlösung und n/10 Natriumcarbonat bereitete Mischung behielt bis 2 Stunden nach ihrer Herstellung die volle Wirksamkeit. Das Gemisch der gleichen Alkaloidlösung mit n/10 Natronlauge wurde jedoch mit der Zeit immer weniger wirksam und war nach 90 Minuten nahezu wirkungslos. d-Hyoscyamincamphosulfonat verhielt sich gegenüber Natronlauge ganz anders als l-Hyoscyamin. Eine 0,06 %ige Lösung von d-Hyoscyamincamphosulfonat wurde mit der gleichen Menge n/10 Natronlauge gemischt, worauf dann die 3 γ/g Alkaloidsalz entsprechende Menge 15, 30, 60 und 90 Minuten nach der Mischung injiziert wurde. Die Mydriasis war zu jedem Zeitpunkt gegenüber der Anfangswirkung des Alkaloids verstärkt und maximal. Das Gemisch von 0,06 % d-Hyoscyaminsalz und n/5 Natronlauge rief bis 60 Minuten nach der Mischung ebenfalls verstärkte und maximale Mydriasis hervor und wurde dann etwas schwächer. Nach stärkerer Alkalisierung mit n/2 Natronlauge bewirkte die Mischung nur 15 Minuten lang vollkommene Mydriasis, büßte dann allmählich an Wirksamkeit ein und war nach 60 Minuten vollkommen unwirksam. Durch n/1 Natronlauge wurde die Hydrolyse noch mehr beschleunigt, die alkalische Lösung behielt nur 5 Minuten die maximal mydriatische Wirkung und war nach 30 Minuten unwirksam.

Diese Ergebnisse zeigen, daß d-Hyoscyamin bei Anwesenheit von Alkali sich zweiphasisch verändert: am Anfang wächst seine mydriatische Wirkung, später sinkt diese ab. Mit wachsender Konzentration des Alkalis

---

[14] Joachimoglu: Berl. klin. Wschr. **52**, 911 (1915). — [15] Garrod: Medico chir. transactions **41**, 53 (1858). — [16] Harley: The Old vegetable Neurotics. 1869, S. 211.

verläuft die Veränderung schneller. Diese zweiphasische Veränderung ist so zu deuten, daß d-Hyoscyamin in alkalischer Lösung zwei verschiedenen Umwandlungsvorgängen unterliegt, Racemisierung und Hydrolyse, wobei erstere schneller als letztere verläuft. Die Racemisierung läßt dabei das stärkere l-Hyoscyamin in wirksamen Mengen entstehen. Das l-Hyoscyamin allein erfährt in alkalischer Lösung wohl ebenfalls die gleichen Veränderungen. Da jedoch die Racemisierung hierbei nur das schwächere d-Isomere entstehen läßt, wirken beide Umwandlungsvorgänge in gleicher Richtung, die Veränderung ist also nicht zweiphasisch. Hierbei ist zu berücksichtigen, daß die zur Alkalisierung verwandte Alkaloidsalzlösung beim d-Hyoscyamin entsprechend seiner schwächeren Wirksamkeit 40mal mehr Alkaloidmoleküle enthält als beim l-Anteil. Das Atropin, das an sich schon ein Racemprodukt ist, kann nur der Umwandlung durch Hydrolyse unterliegen. Im zeitlichen Verlaufe der Veränderungen von l-Hyoscyamin und von Atropin war kein Unterschied bemerkbar.

Die Lösung von 0,001 % l-Scopolaminbromcamphosulfonat wurde mit gleichem Volumen n/10 Natronlauge gemischt. Die alkalische Lösung verlor ihre Wirkung mit der gleichen Geschwindigkeit wie das l-Hyoscyamin. 90 Minuten nach der Mischung war sie vollkommen wirkungslos. Die 0,01 %ige Lösung von d-Scopolaminbromcamphosulfonat, ebenfalls mit n/10 Natronlauge versetzt, wurde mit der Zeit weniger wirksam, rief jedoch bis 90 Minuten nach der Mischung noch immer deutliche Mydriasis hervor. Erfolgte die Mischung des d-Scopolaminsalzes mit n/5 Natronlauge, verlief die Abschwächung viel schneller, so daß bereits nach 60 Minuten keine Wirkung mehr zu beobachten war. Die anfängliche Verstärkung der Wirkung, die bei d-Hyoscyamin festgestellt wurde, war bei d-Scopolamin nur angedeutet. Die Veränderungen, die d-Scopolamin erfährt, sind wohl die gleichen wie beim d-Hyoscyamin. Die Zunahme an Wirksamkeit des Scopolaminmoleküls bei seiner Umwandlung aus der d-Verbindung in das Racemat ist jedoch nicht so groß wie die des d-Hyoscyamins bei der Racemisierung zu Atropin, da das d-Scopolamin an sich schon dem l-Anteil nur 10fach unterlegen ist, während das d-Hyoscyamin $^1/_{40}$ so stark wirksam ist wie sein l-Isomeres. Außerdem werden die Scopolamine im Organismus vermutlich rascher hydrolysiert als die Hyoscyamine. In den Versuchen von Oettingen und Marshall[17] erwiesen sich die Hyoscyamine gegenüber Kaninchenserum widerstandsfähiger als die Scopolamine. In diesen Versuchen wurde auch die Angabe von Cushny bestätigt, daß die linksdrehenden Verbindungen im Organismus schneller zerstört werden als die rechtsdrehenden. Die Racemate nehmen eine Mittelstellung ein.

Wie sich aus obigen Versuchen ergibt, sind die Solanaceenalkaloide als Ester bei alkalischer Reaktion in vitro leicht zersetzlich. Ob diese Zer-

[17] Oettingen u. Marshall: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **31**, 224 (1933); J. Pharmacol. (Am.) **50**, 15 (1934).

Tabelle 1. Einfluß von Acidose und Alkalose auf die Stärke der mydriatischen Wirkung von Hyoscyamin, Atropin und Skopolamin.

Zeit der Pupillenmessung nach der Injektion des Alkaloides in Minuten	0,05 γ/g l-Hyoscyaminhydrobromid		3 γ/g d-Hyoscyamincamphosulfonat			0,1 γ/g Atropinsulfat. Alkalose. Alkaligabe		0,05 γ/g l-Skopolaminbromcamphosulfonat			0,5 γ/g d-Skopolamin (d-Hyoscin)-bromcamphosulfonat			0,5 mg/g Tropasäure (als Na-Salz) + 0,05 γ/g l-Hyoscyaminhydrobromid 15 Min. später injiziert
	Acidose. Injektion von NH_4Cl 15 Min. vor der Alkaloidinjektion	Alkalose. Alkaligabe: 5 Min. nach der Alkaloidinjektion	Acidose. Injektion von NH_4Cl 15 Min. vor der Alkaloidinjektion	Alkalose. Alkaligabe: 5 Min. nach der Alkaloidinjektion	Alkalose. Alkaligabe: 15 Min. nach der Alkaloidinjektion	5 Min. nach der Alkaloidinjektion	15 Min. nach der Alkaloidinjektion	Acidose durch NH_4Cl 15 Min. zuvor injiziert	Alkalose. Alkaligabe: 5 Min. nach der Alkaloidinjektion	Alkalose. Alkaligabe: 15 Min. nach der Alkaloidinjektion	Acidose durch NH_4Cl 15 Min. zuvor injiziert	Alkalose. Alkaligabe: 5 Min. nach der Alkaloidinjektion	Alkalose. Alkaligabe: 15 Min. nach der Alkaloidinjektion	
	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%
5	+ 70	+ 13	— 39	+ 33	+ 6	— 27	— 21	— 27	+ 43	+ 7	0	+ 41	— 7	+ 7	+ 19
15	+ 97	+ 48	0	+ 36	+ 11	— 5	— 14	— 16	+ 58	— 19	— 10	+ 5	0	+ 2	+ 18
30	+ 35	+ 16	+ 1	+ 41	+ 10	— 1	0	+ 3	+ 9	— 2	+ 2	+ 5	— 1	+ 4	+ 6
60	+ 49	+ 24	— 4	+ 51	+ 17	— 3	+ 4	+ 8	+ 33	+ 7	+ 8	+ 9	0	+ 4	+ 16
90	+ 37	+ 39	— 6	+ 31	+ 36	— 3	+ 8	+ 33	+ 33	+ 27	+ 22	+ 19	+ 7	+ 17	+ 33
120	+ 27	+ 63	0	+ 51	+ 46	— 4	+ 5	+ 46	+ 19	+ 49	+ 38	+ 19	+ 7	+ 41	+ 25

Die Prozentzahlen für die Veränderung der Pupillengröße sind aus Mittelwerten von jeweils 6 alkalotischen oder acidotischen und 6 normalen Tieren errechnet.

setzung auch im Organismus von künstlich alkalotisch oder azidotisch gemachten Tieren beschleunigt verläuft oder nicht, wurde ebenfalls durch fortlaufende Bestimmung ihrer mydriatischen Wirkung untersucht (vgl. Tabelle 1).

Die Alkalosis wurde erzeugt durch subcutane Injektion von 0,005 ccm pro g n/10 Natronlauge, die 5 oder 15 Minuten nach der Alkaloidzuführung vorgenommen wurde. Die mydriatische Wirkung von 0,05 γ/g l-Hyoscyaminhydrobromid war, verglichen mit der Wirkung an normalen, bei alkalotischen Tieren weder geschwächt noch verkürzt. War die Natronlauge 5 Minuten nach der Alkaloidinjektion eingespritzt, so zeigte sich die Wirkung sogar verstärkt und verlängert. d-Hyoscyamincamphosulfonat führte dabei zu den gleichen Ergebnissen wie die l-Verbindung. Auch beim Atropin, l- sowie d-Scopolamin war statt Abschwächung und Verkürzung eine geringe Verlängerung der Wirkungsdauer an alkalotischen Tieren zu sehen. Dies stimmt mit den

Ergebnissen von Traube[18] überein, der durch Zusatz von Natriumcarbonat eine mehr oder minder ausgeprägte Wirkungsverstärkung bei verschiedenen Alkaloiden beobachtete, darunter auch beim Atropin.

An den durch vorhergehende Injektion von 0,25 mg/g Ammoniumchlorid azidotisch gemachten Tieren wurde die mydriatische Wirkung in entsprechender Weise geprüft. Alle 4 Alkaloide wirkten hier etwas stärker als an normalen Tieren. Diese Ergebnisse beruhen vielleicht darauf, daß die nervöse Erregbarkeit azidotischer Tiere, wie es von Elias[19] beobachtet wurde, allgemein gesteigert ist.

Auch Tschernikow[20] fand bei zahlreichen Alkaloiden eine Wirkungsverstärkung durch Azidose, während Alkalose die Wirkung herabsetzte. In seinen Versuchen blieben Atropin und Scopolamin von der Verschiebung des p_H unbeeinflußt. Papenberg[21] konnte in Versuchen an Menschen und Hunden keinen Einfluß von saurer und alkalischer Nahrung auf die Stärke der Atropinwirkung feststellen.

Die Spaltprodukte des Atropins: Tropin- und Tropasäure, sollen bei der direkten Applikation ins Auge keine mydriatische Wirkung entfalten [Crum Brown und Fraser[22], Hellmann[22a], Buchheim[23], Gottlieb[24]]. Im Gegensatz zu der Unwirksamkeit des Tropins bei direkter Applikation beobachtete Gottlieb an der Katze bei Allgemeinvergiftung durch intravenöse Injektion von 0,2—0,5 g Tropinsulfat langanhaltende Mydriasis. Lévy und Hazard[25] konnten wiederum bei der Einwirkung von Tropin am enukleierten Froschauge eindeutige Mydriasis feststellen. Die freie Tropasäure ließ nach den gleichen Autoren am enukleierten Auge eine geringe Myose entstehen, während ihr Natriumsalz unwirksam war. Die Tropasäure wird nach Kay und Raper[26] unverändert ausgeschieden, das Tropin nach Fickewirt und Heffter[27] zum großen Teil im Organismus oxydiert.

In unseren Versuchen an Mäusen wurden Tropin, Tropasäure und tropasaures Natrium subcutan gegeben. 0,25 mg/g Tropin wirkte gar nicht mydriatisch, während 1,0—5,0 mg/g Tropin neben anderen Vergiftungserscheinungen mäßige Mydriasis hervorrief. 5,0 mg/g Tropin waren tödlich. Von der Tropasäure erweiterten 0,25—5,0 mg/g die Pupille nur wenig, 1,0—2,0 mg/g wirkten zwar stark mydriatisch, 2,0 mg/g waren jedoch schon tödlich. Das Natriumsalz der Tropasäure war im Vergleich zur freien Tropasäure viel schwächer wirksam. 2,0—4,0 mg/g wirkten etwas mydriatisch und 6,0 mg/g (stets als Säure berechnet) waren tödlich.

---

[18] Traube: Biochem. Z. **42**, 470 (1912). — [19] Elias: Z. exper. Med. **7**, 1 (1918). — [20] Tschernikow: Chem. Zbl. **1938**, II, S. 2966. — [21] Papenberg: Dissertation Hamburg 1921. — [22] Crum Brown u. Fraser: Proc. roy. Soc. Edinbourgh **6**, 556 (1869). — [22a] Hellmann: Diss. med. Fak. Jena 1863. — [23] Buchheim: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **5**, 463 (1876). — [24] Gottlieb: Ebenda **37**, 218 (1896). — [25] Lévy u. Hazard: Arch. Pharmacodyn. **36**, 26 (1929). — [26] Kay u. Raper: Biochem. J. **18**, 153 (1922). — [27] Fickewirt u. Heffter: Biochem. Z. **40**, 36 (1912).

Die gemeinsame Wirkung der beiden Spaltprodukte des Atropins in äquivalenten Mengen wurde ebenfalls an der Pupille bestimmt (vgl. Tabelle 2). 0,5 mg/g Tropin + 0,6 mg/g freie Tropasäure wurden zu-

Tabelle 2. Mydriatische Wirkung von 0,5 mg/g Tropin + 0,6 mg/g Tropasäure bei subcutaner Injektion an Mäusen. Pupillenweite in mm.

Zeit der Pupillenweite nach der Injektion des Alkaloides in Min.	Normale Tiere				Acidosis d. 0,25 mg/g NH_4Cl	Alkalosis d. 0,01 ccm/g mol. $NaHCO_3$
	Injektion gleich nach der Mischung in der Spritze. Tropasäure als Na-Salz	Getrennte Injektion der beiden Stoffe an der gleichen Körperstelle	Injektion gleich nach der Mischung in der Spritze	Injektion 15 Min. nach der Mischung in der Spritze	Injektion 15 Min. nach der Mischung in der Spritze	Injektion 15 Min. nach der Mischung in der Spritze
5	0,9 1,1 } 0,8 0,4	1,0 0,5 } 0,97 1,4	0,6 0,4 } 0,57 0,7	0,4 0,5 } 0,5 0,6	1,2 1,2 } 1,13 1,0	0,8 0,6 } 0,6 0,4
15	1,1 1,0 } 0,83 0,4	1,2 0,6 } 1,07 1,4	0,6 0,4 } 0,6 0,8	0,4 0,4 } 0,43 0,5	1,0 0,8 } 0,93 1,0	0,6 1,6 } 1,07 1,0
30	1,3 0,7 } 0,83 0,5	1,4 0,8 } 1,2 1,4	0,4 0,6 } 0,8 1,4	0,9 0,6 } 0,77 0,8	1,4 1,2 } 1,33 1,4	1,8 2,4 } 2,13 2,2
60	1,5 1,1 } 1,1 0,6	1,4 0,8 } 1,2 1,4	0,6 1,2 } 1,27 2,0	1,0 0,6 } 0,87 1,0	1,6 1,5 } 1,63 1,8	2,4 2,4 } 2,4 2,4
90	1,6 1,6 } 1,3 0,7	1,4 0,6 } 1,1 1,2	0,6 0,8 } 1,13 2,0	0,6 0,6 } 0,67 0,8	1,6 1,2 } 1,5 1,7	2,4 2,4 } 2,4 2,4
120	1,7 1,4 } 1,27 0,7	1,4 0,5 } 1,03 1,2	0,6 0,5 } 1,03 2,0	0,4 0,6 } 0,47 0,4	1,4 0,9 } 1,37 1,8	2,4 2,4 } 1,93 1,0

2,4 mm = maximale Mydriasis.

sammen gegeben: zunächst einmal getrennt, jedoch gleich hintereinander durch Injektion an der gleichen Körperstelle zugeführt, sowie bei anderen Tieren 15 Minuten nach der in der Spritze vorgenommenen Mischung. An normalen Mäusen war die Wirkung gering, an azidotischen etwas verstärkt. An alkalotischen Mäusen, die 15 Minuten zuvor durch subcutane Injektion von 0,01 ccm mol 1 $NaHCO_3$ vorbehandelt waren, führte das Gemisch der beiden Komponenten, an einer anderen Körperstelle injiziert, zu vollständiger Pupillenerweiterung, was auf eine Esterbildung im Organismus schließen läßt.

Es wurde noch versucht festzustellen, ob der Verlauf der Hyoscyaminspaltung im Organismus durch zusätzliche Gabe eines der Spaltprodukte beeinflußt werden kann. Die mydriatische Wirkung des l-Hyoscyamins wurde an normalen Tieren und an solchen Tieren miteinander verglichen, die mit 0,5 mg/g Tropasäure (als Natriumsalz) 15 Minuten zuvor vorbehandelt waren. Um die individuelle Verschiedenheit der Empfindlichkeit

auszuschalten, wurden jeweils die gleichen Tiere später als Kontrollen gebraucht. An den mit tropasaurem Natrium vorbehandelten Tieren war jedoch die Mydriasis durch l-Hyoscyamin nur wenig verstärkt (Tabelle 1).

Zusammenfassung.

Die zentrale Einwirkung von l-Hyoscyamin, l-Scopolamin, sowie ihrer optischen Isomeren, erkennbar an ihrem Einfluß auf die Motilität, wurde an weißen Mäusen verglichen. Ein wesentlicher Unterschied der einander isomeren Alkaloide wurde nicht gefunden.

Die mydriatische Wirkung dieser Alkaloide, gemessen nach subcutaner Injektion an Mäusen ist quantitativ verschieden. Zur Erzielung der gleichen Mydriasis ist im Vergleich zu l-Hyoscyamin die 40fache Dosis von d-Hyoscyamin erforderlich. Dies entspricht dem von Cushny an der Speicheldrüse des Hundes ermittelten Stärkeverhältnis.

Atropin übertrifft die Wirkung der halben Gewichtsmenge Hyoscyamin an der Pupille.

Das Verhältnis gleich wirksamer Dosen von l-Scopolamin und d-Scopolamin (d-Hyoscin) beträgt 1 : 10.

Die mydriatische Wirkung an der Maus von l-Scopolamin ist 3,5mal stärker als die des Atropins.

Die Zersetzung oben genannter Alkaloide in alkalischer Lösung in vitro verläuft, wie sich aus der Veränderung ihrer Wirkung auf die Pupille ergibt, mit verschiedener Geschwindigkeit. Die Zersetzung erfolgt unter Racemisierung und Hydrolyse, wobei erstere schneller verläuft als letztere.

Diese Alkaloide werden von alkalotischen oder azidotischen Tieren nicht schneller abgebaut als von normalen. Ihre Wirkung hält im Gegenteil sowohl bei alkalotischen als auch bei azidotischen Tieren länger an.

An den mit tropasaurem Natrium vorbehandelten Mäusen wirkt l-Hyoscyamin etwas stärker als an normalen; diese geringe Verstärkung kann die Folge von Addition der Einzelwirkungen beider Substanzen sein.

Die Spaltprodukte Tropin- und Tropasäure erweitern einzeln bei subcutaner Injektion die Pupille der Maus erst in stark toxischen Dosen. Das Gemisch dieser beiden Komponenten in subtoxischen Dosen wirkt bei normalen Tieren nicht wesentlich stärker als jede einzelne Substanz. Bei alkalotischen Tieren ist die Wirkung jedoch in solchem Maße verstärkt, daß es zu maximaler Mydriasis kommt, was auf eine Esterbildung im alkalotischen Organismus schließen läßt. (Die Versuche werden fortgesetzt.)

Aus dem Ungarischen Biologischen Forschungsinstitut Tihany.

Über die Kreislaufwirkung des Oxyphenyl-β-Isopropylamin.

Von

Béla v. Issekutz, jun.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 15. Februar 1939.)

Die an das Adrenalin in der Kollapstherapie geknüpften Hoffnungen gingen nicht in Erfüllung, vor allem deshalb nicht, weil das schon ohnehin kranke, ermüdete Herz durch den starken Anstieg des Blutdrucks vor eine Aufgabe gestellt wird, welcher es oft nicht gewachsen ist; dies kann zur Arrythmie und sogar zur Herzinsuffizienz führen. Wohl wird die Leistungsfähigkeit des Herzens durch Adrenalin erhöht, doch steht diese mit dem Blutdruckanstieg, sowie dem Sauerstoffmehrverbrauch des Herzens keineswegs im Verhältnis, so daß Adrenalin auf die Ökonomie der Herzarbeit gewöhnlich ungünstig einwirkt. Als Ersatz des Adrenalins wurde anfangs das Ephedrin angewandt, welches auf die Gefäße und den Blutdruck zwar schwächer einwirkt und von anhaltender Wirkung ist, jedoch die Herztätigkeit überhaupt nicht bessert, in größeren Dosen sogar noch verschlechtert. Die Vorteile des Adrenalins und Ephedrins werden bis zu einem gewissen Grade im Sympatol vereinigt, dessen Wirkung eine anhaltendere ist als die des Adrenalins. Neben der erheblichen blutdrucksteigernden Wirkung kommt dieser Substanz auch eine entsprechend kräftige, direkte Herzwirkung zu, so daß das Verhältnis zwischen Herz- und Kreislaufwirkung günstiger liegt als bei Adrenalin. Dem Metasympatol kommt laut den Untersuchungen von M. L. Tainter[1] und Bacq[1a] eine energischere Wirkung und geringere Toxizität als der Paraverbindung zu.

Obwohl viele andere ähnliche Verbindungen dargestellt wurden, die man zahlreichen eingehenden Untersuchungen unterzog, kann auf diesem Gebiete bis zu den Untersuchungen H. Reins[2] kein wesentlicher Fortschritt verzeichnet werden. Rein hat für die Beurteilung der Wirkung dieser Substanzen ein neues Prinzip als maßgebend hingestellt, indem er betonte, daß nicht die Höhe des Blutdruckanstieges, sondern das Maß der Besserung des Kreislaufes ausschlaggebend sei. Seine mit Veritol an Hunden vorgenommenen mustergültigen Versuche ergaben, daß dieser Substanz, welche auf den Blutdruck nur schwach einwirkt, in therapeutischer Hinsicht

[1] Tainter, M. L.: J. Pharmacol. (Am.) **40**, 43 (1930). — [1a] Bacq, Z. M.: Arch. int. Pharm. Ther. **60**, 456 (1938). — [2] Rein, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **187**, 617 (1937); Klin. Wschr. **16**, 700 (1937).

recht wertvolle Eigenschaften zukommen, da es durch eine im venösen System hervorgerufene Kontraktion die Rückströmung des Blutes zum Herzen begünstigt; dazu gesellt sich eine direkte Wirkung auf das Herz, was eine Erhöhung des Puls- und Minutenvolumens und letzten Endes eine Blutdrucksteigerung zur Folge hat. Durch die Entleerung der Blutdepots — Milz, Leber usw. — wird die kreisende Blutmenge derart erhöht, daß dies schon für sich allein eine Blutdruckerhöhung von längerer Dauer bewirken könnte. Neben diesen beiden Faktoren spielt die Kontraktion der Arteriolen im Zustandekommen der Blutdruckerhöhung eine nur geringe Rolle: das Hindernis, welches der Herzarbeit in den Weg gelegt wird, ist somit gering und entsteht noch dazu nur allmählich, so daß das Herz Zeit hat, sich der Mehrarbeit anzupassen. Deshalb kommt es nur selten zu Arrhytmien, zumal, wenn die optimalen Dosen herausgefunden werden, welche den Blutdruck nicht mehr merklich erhöhen, dabei aber noch auf den Kreislauf günstig einwirken.

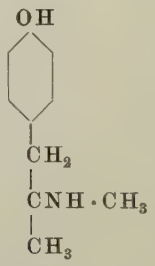
Die pharmakologischen und klinischen Untersuchungen von K. Zipf[3], O. Eichler[4], W. Lindner[5], F. Grosse-Brockhoff und F. Kaldenberg[6], H. Mügge[7], F. Meyer und W. Spiegelhoff[8], H. Schneider und H. Kopp[9], W. Klostermeyer und B. Jonsson[10], A. Sturm und H. Voges[11] mit Veritol haben jene von Rein im großen und ganzen bestätigt. Ein bedeutender Unterschied ist, daß Veritol beim Menschen gewöhnlich eine Pulsverlangsamung, beim Tiere eine Pulsbeschleunigung hervorruft. Bei Katzen und Kaninchen bewirkt Veritol eine ausgesprochene Tachyphylaxie, bei Hunden und Menschen scheint ihm diese Wirkung nicht zuzukommen, wiederholte Injektionen entfalten eine gleich intensive Wirkung. Es wird in klinischen Beobachtungen ziemlich oft erwähnt, daß Veritol bereits in Dosen zu 10 mg eine Bigeminie hervorrufen kann; größere Dosen können zu einem Verzweigungsblock führen.

Im Veritol ist ein Methylaminradikal vorhanden. Es ist aber schon lange bekannt, daß das Noradrenalin, Arterenol, wirksamer ist als das Adrenalin (J. Biberfeld[12] u. a.). Auch wissen wir aus den Untersuchungen von Chen, Chang-Keng und Henriksen[13], daß auch unter den Ephedrinverbindungen die primären Amine wirksamer sind als die sekundären und tertiären. In gleicher Weise konnte Schaumann[14] zeigen, daß das m-Oxynorephedrin bedeutend wirksamer ist als das m-Oxyephedrin. Auch das Dioxyephedrin übt eine schwächere gefäßverengernde Wirkung

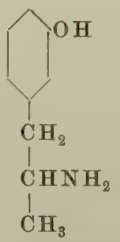
[3] Zipf, K.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **189**, 679 (1938); Klin. Wschr. **16**, 1340 (1937). — [4] Eichler, O.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **187**, 429 (1937). — [5] Lindner, W.: Ebenda **187**, 444 (1937). — [6] Grosse-Brockhoff, F., u. F. Kaldenberg: Klin. Wschr. **16**, 948 (1937). — [7] Mügge, H.: Ebenda, S. 1240. — [8] Meyer, F., u. W. Spiegelhoff: Ebenda, S. 1342. — [9] Schneider, H., u. H. Kopp: Ebenda, S. 1672. — [10] Klostermeyer, W., u. B. Jonsson: Ebenda, S. 1724. — [11] Sturm, A., u. H. Voges: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 331 (1939). — [12] Biberfeld, J.: Z. Klin. Med. **1906**, Nr. 45. — [13] Chen, K. K., Chang-Keng Wu u. E. Henriksen: J. Pharmacol. (Am.) **36**, 363 (1928). — [14] Schaumann: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **160**, 138 (1931).

aus als die entsprechende Norverbindung. Die Regel, laut welcher die Norverbindungen stärker wirksam seien, scheint sich somit allgemein zu bewahrheiten. Daher konnte mit Recht erwartet werden, daß auch die dem Veritol entsprechenden Norverbindungen stärker wirksam sein würden.

Gordon und A. Alles[15] haben das p-Oxyphenol-β-isopropylamin schon im Jahre 1933 pharmakologisch geprüft und nachgewiesen, daß 0,2—0,4 mg/kg dieser Substanz, in tiefer Veronalnarkose intravenös gegeben, eine 30—60 Minuten anhaltende Blutdrucksteigerung hervorruft. Auch eine bedeutende bronchuserweiternde Wirkung konnte nachgewiesen werden. Demgegenüber ist die Toxizität der Substanz nur gering, da erst das Tausendfache der wirksamen Dosis letal wirkt. Die Untersuchungen dieser Autoren haben sich aber auf die genauere Erkenntnis des Wirkungsmechanismus nicht erstreckt, daher hielt ich es für angebracht, in dieser Richtung ergänzend weiterzuarbeiten, dies um so mehr, als ich Gelegenheit hatte, mich neben der p-Verbindung auch mit der m-Verbindung zu befassen*.



Veritol.



m-Oxyphenyl-β-isopropylamin.

An der weißen Ratte wurde die Toxizität der p- und m-Verbindungen von mir als identisch gefunden: die letale Dosis beträgt 0,4—0,5 g/kg bei beiden Substanzen. Der Tod tritt nach leichten Krampfanfällen unter allgemeinen Lähmungserscheinungen ein. Somit ist die Toxizität dieser Verbindungen etwas niedriger als die des Veritols und viel niedriger als die des Sympatols oder Adrenalins. Dem β-Phenylisopropylamin, welches keine OH-Gruppe enthält, kommt eine viel stärkere zentral-erregende Wirkung zu; schon 0,025 g/kg führen zu Krämpfen und Exitus, hingegen ist die Kreislaufwirkung dieser Substanz viel schwächer als die des Oxyphenylisopropylamins.

Die diesbezüglichen Versuche wurden an Katzen vom Gewichte zu 2,5—3,5 kg in den Monaten Juli und August durchgeführt.

Ein Teil der Tiere wurde mit 0,12—0,15 g/kg Luminal narkotisiert, der andere Teil dekapitiert. Dies wurde in Äthernarkose, nach Durchschneiden der Vagi, durch intracisternale Einspritzung von 25%igem

[15] Gordon u. A. Alles: J. Pharmacol. (Am.) **47**, 339 (1933).

* Beide Substanzen wurden mir von der Chinoin, Fabrik Chem.-Pharm. Produkte, Ujpest, zur Verfügung gestellt, wofür ich auch an dieser Stelle Dank sage.

Magnesiumsulfat ausgeführt. Der Blutdruck der durch künstliche Atmung und genügende Erwärmung am Leben erhaltenen Tiere sank sowohl infolge der Luminalnarkose als auch infolge der Dekapitation und blieb stundenlang gleichmäßig niedrig (60—80 mm Hg).

Abb. 1. Versuch VIII. 3,0 kg-Katze, um $10^h 20'$ mit 25 % $MgSO_4$ dekapitiert. Unten der Blutdruck, oben die Herztätigkeit registriert. *a*) Um $11^h 02'$ 0,1 mg/kg O. A. intravenös. Erhöhung des Blutdruckes von 60 mm Hg auf 140 mm Hg, der Pulszahl von 190 auf 220. Erhebliche Zunahme des Pulsvolums. *b*) Um $11^h 33'$ 0,1 mg/kg Veritol intravenös. Erhöhung des Blutdruckes von 60 mm Hg auf 90 mm Hg, der Pulszahl von 175 auf 205 Zeitmarke: 30 Sek.

a) Wirkung auf den Blutdruck und die Herztätigkeit. Der Blutdruck wurde mit Hilfe eines in die Carotis gebundenen Hg-Manometers, die Herztätigkeit nach Eröffnung des Brustkorbes mit Hilfe eines Cardiometers registriert. Die intravenös gegebenen Oxyphenyl-β-isopropylamin-

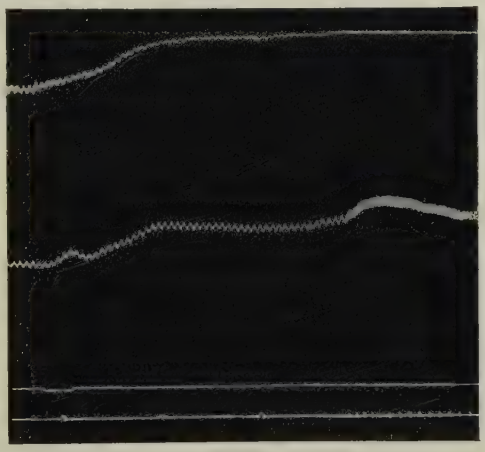
(abgekürzt: O.A) Verbindungen bewirken einen bedeutenden Blutdruckanstieg. Zwischen der p- und m-Verbindung ließ sich hinsichtlich deren Wirksamkeit kein Unterschied feststellen.

Aus Abb. 1 geht die Wirkung von 0,1 mg/kg O.A. auf Blutdruck und Pulsvolumen klar hervor. Der Blutdruck des dekapitierten Tieres stieg 4 Minuten nach der intravenösen Injektion von 60 mm Hg auf 220 mm Hg. Genau wie bei Veritol erfolgt auch hier der Anstieg allmählich und erreicht das Maximum später als nach Verabfolgung von Adrenalin. Dieser Umstand ist deshalb wichtig, weil dadurch dem Herzen Möglichkeit gegeben wird, sich der Mehrarbeit anzupassen, wodurch die Insuffizienz vermieden wird. Die Pulszahl erhöht sich von 190 auf 226, gleichzeitig vergrößert sich das Pulsvolumen. Es ist an der Kurve gut zu sehen, daß zunächst die Systolen kräftiger werden, das Herz kontrahiert sich besser, der untere Rand der Cardiometerkurve sinkt und erst dann kommt es zur Zunahme der diastolischen Füllung, was mit Vergrößerung des Pulsvolumens einhergeht. Wurde nach einer halben Stunde, als die Wirkung schon vollständig abgeklungen war, 0,1 mg/kg Veritol intravenös gegeben, so stieg der Blutdruck von 60 mm Hg nur auf 90 und auch die Herzwirkung war bedeutend schwächer als nach O.A. Es soll noch erwähnt werden, daß die vor der Injektion spontan aufgetretene Arrythmie nicht behoben wurde. Da ich auch die Möglichkeit einer tachyphylaktischen Wirkung des O.A. zu erwägen hatte, habe ich nach 40 Minuten nochmals 0,1 mg/kg O.A. intravenös verabreicht. Hätte es sich tatsächlich um eine Tachyphylaxie gehandelt, so hätte das nach dem Veritol verabreichte O.A. noch schwächer wirken müssen. Demgegenüber stieg der Blutdruck von 70 mm Hg auf 130 mm; erhöhten sich auch Pulszahl und -volumen und — was am auffallendsten ist — wurde die vorher bestehende Arrhythmie am Höhepunkt des Blutdrucks fast völlig behoben. Selbst 0,05 mg/kg erwiesen sich in vielen Versuchen als wirksam. So erhöhte sich der Blutdruck im Versuch Nr. IX (dekapitierte Katze zu 2,8 kg) von 50 mm Hg auf 110, die Pulszahl von 175 auf 210; die vor der Injektion manchmal auftretenden Extrasystolen blieben am Höhepunkt der Wirkung auch in diesem Falle aus. Selbst diese kleine Dosis war von einer ziemlich anhaltenden Wirkung begleitet, da der Blutdruck erst nach 36 Minuten auf das ursprüngliche Niveau zurücksank. Die Wirkung des 1 Stunde später verabreichten Veritols (ebenfalls 0,05 mg/kg) erwies sich als weitaus schwächer, da der Blutdruck insgesamt um 10 mm Hg stieg. Hingegen konnte nach 20 Minuten die gleiche Dosis O. A. einen Blutdruckanstieg von 30 mm Hg hervorrufen. Somit zeigt auch dieser Versuch, daß die Katze eine ausgesprochene Tachyphylaxie sowohl dem Veritol als auch dem O. A. gegenüber an den Tag legt. Daher lassen sich die beiden Substanzen hinsichtlich ihrer Wirkung nicht vergleichen, da jede folgende Injektion infolge der Tachyphylaxie schwächer wirkt als die vorausgehende. Dennoch erwies sich in jenen Versuchen, in welchen ich Veritol zwischen zwei O. A.-Injektionen verabreichte, das

O.A. als etwas wirksamer als das Veritol. Zwar war der Unterschied nicht in jedem Falle ausgesprochen, doch habe ich keinen einzigen Fall beobachtet, in welchem das Veritol wirksamer gewesen wäre. Ob zwischen p- und m-O.A. ein Unterschied besteht, ist wegen der Tachyphylaxie äußerst schwer zu entscheiden. Ich habe dies in ziemlich zahlreichen Versuchen nicht feststellen können, weil sich beide Substanzen bei der zweiten Injektion stets als schwächer erwiesen als bei der ersten, wie ich auch an der Reihenfolge ändern mochte.

Nach subcutaner Injektion von O.A. stellt sich der Blutdruckanstieg nur allmählich ein, hält aber auch länger an als bei intravenöser Anwendung. So stieg der Blutdruck nach subcutaner Verabreichung von 0,1 mg/kg O.A. von 65 mm Hg auf 80 mm Hg; die Pulszahl blieb sich gleich. Die Wirkung hielt 30 Minuten an. Eine nach 10 Minuten subcutan verabreichte O.A.-Injektion zu 0,2 mg/kg steigert den Blutdruck nur um 10 mm, auch hält die Wirkung bloß 15 Minuten an. Wird sodann 1 mg/kg O.A. subcutan gegeben, erhöht sich der Blutdruck von 50 mm Hg auf 84 mm Hg, die Pulszahl von 160 auf 180 und die Wirkung hält $3^1/_2$ Stunden an.

b) Wirkung auf die Milz- und Nierengefäße. Die Untersuchungen Reins[2] haben für Veritol ergeben, daß es, im Gegensatz zu Adrenalin, die Nierengefäße nicht verengt. Während das Adrenalin die Blutströmung derart verlangsamt, daß eine Stockung in der Harnsekretion eintritt, wird die Geschwindigkeit der Blutströmung durch Veritol nicht herabgesetzt, die Diurese nicht gehemmt, im Gegenteil konnte Zipf[3] eine durch Gefäßerweiterung bedingte Zunahme des Nierenvolumens feststellen. Die Wirkung des O.A. auf die Milz- und Nierengefäße habe ich onkometrisch untersucht.



a

Abb. 2. Versuch Nr. XIV. 3,0 kg-Katze. $MgSO_4$-Dekapitation. Oben das Nierenvolum, unten der Blutdruck registriert. *a*) 0.2 mg/kg O. A., Anstieg des Blutdruckes von 60 mm Hg auf 100 mm Hg. Erhebliche Zunahme des Nierenvolumens. Zeit: 30 Sek.

Nach 10 γ/kg Adrenalin habe ich parallel mit dem Blutdruckanstieg eine Volumenverringerung der Niere und der Milz beobachtet, doch klingt die Wirkung bald ab und beide Organe erlangen ihren normalen Zustand wieder. O.A. bewirkt hingegen (Abb. 2) eine bedeutende Volumenzunahme der Niere. Somit wird durch O.A. ebenso wie durch Veritol eine Erweiterung der Nierengefäße bewirkt. Wie von Rein[2], Zipf[3] und anderen Autoren

nachgewiesen, ist die Entleerung der Milz samt der übrigen Blutdepots und die dadurch bewirkte Zunahme der kreisenden Blutmenge ein bedeutender Faktor der Veritolwirkung. Auf Grund meiner Untersuchungen ist die Wirkung des O. A. ähnlicher Natur: auch hier kommt es zu einer anhaltenden Milzkontraktion. Abb. 3 bringt die Wirkung von 0,05 mg/kg O. A. zur Darstellung. Die Milz kontrahiert sich stark, doch zeigt die Kurve eindeutig, daß diese Kontraktion später einsetzt als der Blutdruckanstieg, somit kann derselbe nicht durch die Milzkontraktion bedingt sein. Der Blutdruckanstieg wird durch eine Vergrößerung des Pulsvolumens eingeleitet, wie wir dies oben gesehen haben und wie dies aus den schönen

Abb. 3. Versuch Nr. XIII. 1,75 kg-Katze. $MgSO_4$ Dekapitation. Unten der Blutdruck, oben das Milzvolum registriert. *a*) Auf 0,05 mg/kg O. A. intravenös steigt der Blutdruck von 50 mm Hg auf 90 mm Hg, und die Milz kontrahiert sich kräftig. Die Wirkung hält 20 Min. an. Zeit: 30 Sek.

Veritolversuchen Reins[2] hervorgeht. In der Vergrößerung des Pulsvolumens spielt die bessere Füllung des Herzens sicherlich eine große Rolle; diese wird durch die vermehrte Rückströmung infolge der Kontraktion der Venen begünstigt. Erst dann kommt es zur Entleerung der Blutdepots, was dann die Blutdruckerhöhung auf dem Wege einer Vermehrung der kreisenden Blutmenge für längere Zeit stabilisiert.

c) Tachyphylaxie. Die Ephedrinderivate haben im allgemeinen die Eigenschaft, daß die Wirkung von nacheinander verabfolgten intravenösen Injektionen nach und nach abnimmt, ja sogar oft in eine inverse Wirkung übergeht, so daß nach der 3.—4. Injektion der Blutdruck nicht mehr steigt, sondern fällt. Bezüglich des Veritols hat Rein[2] bei Hunden keine Tachyphylaxie nachweisen können. Demgegenüber haben Mügge[7] und Eichler[4] auch bei Veritol eine allmähliche Abnahme der Wirkung festgestellt. Zipf[3] betont, daß die Milz und die übrigen Blutdepots erst später zur Norm zurückkehren als der Blutdruck: wird daher die nächste Injektion erst nach der Auffüllung der Blutdepots gegeben, so wird die

Wirkung genau die gleiche sein wie nach der ersten. Nach Eichler[4] ist die Tachyphylaxie auf eine allgemein veränderte Reaktionslage der glatten Muskulatur zurückzuführen.

Was das O.A. anbelangt, konnte ich an Katzen die Feststellung machen, daß, während 0,05 mg/kg nur selten eine Tachyphylaxie hervorrufen, wenn zwischen zwei Injektionen eine genügende Zeitspanne gelassen wird, nach größeren Dosen um so eher eine Tachyphylaxie in Erscheinung tritt, als die Dosen größer waren. Die Registrierung des Milzvolumens z. B. in einem Versuch (XVIII, Katze, 2,2 kg, Mg. sulf. Dekap.) ergibt, daß, während eine durch 10 γ/kg Adrenalin bewirkte Milzkontraktion bald aufhört, die nach Verabreichung von 0,10 mg/kg O.A. kontrahierte Milz auch nach dem Zurücksinken des Blutdrucks kontrahiert bleibt und erst später zur Erschlaffung kommt; dann habe ich im Laufe einer Stunde zweimal je 0,1 mg/kg O.A. verabreicht, und obwohl ich immer erst abgewartet habe, bis der Blutdruck auf das ursprüngliche Niveau zurückgesunken war, zeigte die Milz nach jeder Injektion immer schwächere Kontraktionen. Nach der 4. Injektion wurde der Blutdruck durch 0,1 mg/kg O.A. nur um 25 mm Hg erhöht, obwohl diese Dosis normalerweise einen Blutdruckanstieg bis zu 160 mm Hg hervorzurufen pflegt. Nach derselben Injektion kontrahierte sich die Milz nunmehr kaum. Es ist somit klar, daß die Milz zwischen den wiederholten Injektionen im Kontraktionszustande verharrend, sich nicht wieder mit Blut füllen konnte und daher auch keiner erneuten Kontraktion fähig war. Daß die Milz in diesem Zeitpunkt tatsächlich schon maximal kontrahiert war, geht daraus hervor, daß sie jetzt eine Injektion von 10 γ/kg Adrenalin mit einer minimalen Kontraktion beantworten konnte. Und dabei war die durch diese Adrenalingabe bedingte Blutdruckerhöhung viel bedeutender als jene, welche die gleiche Adrenalindosis vor den O.A.-Injektionen hervorzurufen fähig war. Auch in anderen Versuchen habe ich die Verstärkung der Adrenalinwirkung nach den A.O.-Injektionen in gleicher Weise beobachtet. Dies deckt sich mit der Feststellung Zipfs[3], wonach das Adrenalin nach Verabfolgung einer großen Dosis Veritol (5 mg/kg) viel stärker als normal wirkt. Dies liegt wahrscheinlich daran, daß der Blutdruckanstieg sowohl bei Veritol als auch bei O.A. auf dem Wege der Entleerung der Blutdepots zustande kommt. Somit kommt es zur erheblichen Zunahme der zirkulierenden Blutmenge. Doch paßt sich der Organismus nach einer gewissen Zeit diesem Umstande an und der Blutdruck sinkt, ohne daß sich die vorhin entleerten Depots wieder füllen würden. Dies erklärt, warum die weiteren Injektionen aus den Blutdepots immer weniger Blut herauszupressen vermögen und warum es zur allmählichen Abschwächung der Wirkung des O.A. und des Veritols kommt. Wenn wir nun Adrenalin verabreichen, in dessen Wirkungsmechanismus die Entleerung der Blutdepots eine weit geringere Rolle spielt, kommt es auf dem Wege einer allgemeinen Gefäßkontraktion zur Erhöhung des Blutdrucks, welche um so bedeutender sein wird, je

größer die Menge des zirkulierenden Blutes. Es ist somit nur zu begreiflich, daß nach Verabfolgung von Veritol und O.A., welche die zirkulierende Blutmenge erhöhen, das Adrenalin stärker als normal wirkt, und es erübrigt sich, eine etwaige durch die beiden Substanzen bewirkte Sensibilisierung der Blutgefäße für Adrenalin als Erklärung heranzuziehen. Es scheint daher, daß die bei Veritol und O.A. in Erscheinung tretende Tachyphylaxie nicht auf eine veränderte Reaktionslage der Muskulatur, sondern auf eine anhaltende Vermehrung der zirkulierenden Blutmenge zurückzuführen ist.

Außer den erwähnten Umständen sprechen noch zwei Momente für diese Auffassung: erstens, daß, wie dies von Eichler[4] bei Veritol festgestellt und von mir auch bei O.A. beobachtet wurde, keine Tachyphylaxie hinsichtlich der Herzwirkung besteht. Es kommt nach jeder Injektion in gleicher Weise zur Tachycardie. Auch an den Nierengefäßen bleibt diese Erscheinung aus. Z. B. bei einer dekapitierten Katze (XX. Versuch, Katze 2,7 kg, Mg. sulf. Dekap.), welche schon dreimal O.A. (und zwar 0,1, 0,2, 0,4 mg/kg) erhalten hatte, die darauffolgende vierte Injektion (0,4 mg/kg) so gut wie keine Blutdrucksteigerung bewirkte, die Milz kontrahierte sich nicht, doch nahm das Nierenvolumen erheblich zu.

Die klinische Bedeutung der Tachyphylaxie scheint aber nicht groß zu sein, da eine solche beim Menschen nach Ephedrin- und Veritolinjektionen von H. Robbers und R. Ginader[16] nicht beobachtet werden konnte; genauestens ausgeführte Untersuchungen konnten keine Abschwächung der Wirkung wiederholter Injektionen feststellen.

d) Angriffspunkt. Die zum größten Teil an dekapitierten Tieren vorgenommenen Versuche zeigen eindeutig, daß die blutdruckerhöhende Wirkung des O.A. peripherer Natur ist. Dennoch entspricht die Wirkung des O.A. weder derjenigen des Adrenalins, noch derjenigen des Ephedrins vollständig. Es ist bekannt, daß die Endigungen des Sympathicus durch Novocain und Cocain sensibilisiert, durch Ergotamin und Yohimbin gelähmt werden, somit wird die Adrenalinwirkung durch die ersteren verstärkt, durch die letzteren aufgehoben, ja sogar eine Umkehr derselben bewirkt. Die Wirkungsweise der Ephedringruppe unterscheidet sich darin von derjenigen des Adrenalins, daß hier die Wirkung durch Cocain und Novocain nicht verstärkt, durch Ergotamin und Yohimbin nicht gehemmt wird. Die Wirkung des Veritols weicht nach den Untersuchungen von Rein[2] und Zipf[3] sowohl von derjenigen des Adrenalins als auch von derjenigen des Ephedrins ab. So wird nach Zipf[3] die Wirkung des Veritols durch Cocain nicht nur nicht sensibilisiert, sondern noch eher abgeschwächt. Vom Ephedrin unterscheidet sich Veritol darin, daß seine Wirkung durch Ergotamin gehemmt wird. Dieselbe Erfahrung habe ich auch bezüglich des O.A. gemacht. Im Versuch Nr. IV (4,4 kg-Katze, Luminalnarkose mit 0,22 g/kg) steigt der Blutdruck nach Verabreichen von 0,2 mg/kg O.A.

[16] Robbers, H., u. R. Ginader: Klin. Wschr. **17**, 528 (1938).

von 80 auf 160 mm Hg. Danach habe ich 2 mg/kg Ergotamin verabfolgt und 4 Stunden nach der ersten O.A.-Injektion, als ich annehmen konnte, daß die Tachyphylaxie bereits abgeklungen war, wieder 0,2 mg/kg O.A. injiziert. Der Blutdruck erhöhte sich nicht. Ebenso unwirksam blieb die darauffolgende Veritolinjektion (0,2 mg/kg). Somit werden beide Substanzen in ihrer Wirkung durch Ergotamin gehemmt. Die Untersuchung der sensibilisierenden Wirkung des Cocain und Novocain stößt wegen der Tachyphylaxie auf große Schwierigkeiten, denn falls die auf diese Substanzen folgende zweite Injektion eine schwächere Wirkung zeigen sollte, als die denselben vorausgehende erste, wüßten wir nicht, wie weit wir dies

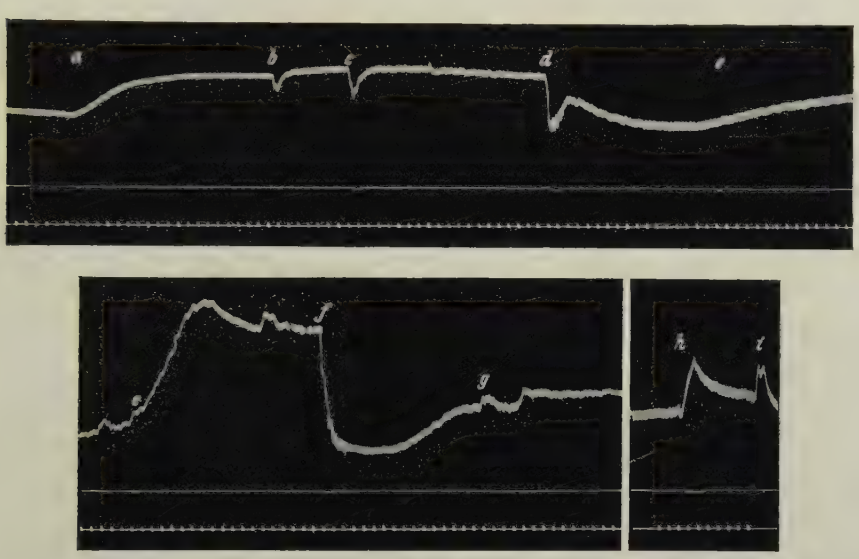


Abb. 4. Versuch Nr. XIII. 2,5 kg-Katze. $10^h 50'$ $MgSO_4$-Dekapitation. *a*) $11^h 19'$, 0,003 %ige O.A.-Infusion zu 0,012 mg pro Min. *b*) $12^h 28'$, 5 mg/kg Novocain intravenös. *c*) $12^h 32'$ 10 mg/kg Novocain intravenös. *d*) $12^h 44'$, 5 mg/kg Cocain. *e*) $15^h 51'$, 0,03 mg/kg O.A. pro Min. *f*) $15^h 58'$, 4 mg/kg Yohimbin intravenös. *g*) $16^h 07'$, 0,07 mg/kg O.A. pro Min. *h*) $16^h 27'$, 1 mg/kg O.A. intravenös. *i*) $16^h 32'$, 50 γ/kg Adrenalin intravenös.

der Tachyphylaxie zuzuschreiben hätten. Um dieser Schwierigkeit aus dem Wege zu gehen, bin ich in meinen nächsten Versuchen auf die Weise vorgegangen, daß ich das O.A. als Dauerinfusion angewandt habe, wodurch ich einen gleichmäßigen Blutdruckanstieg erzielte und den Blutdruck des dekapitierten Tieres auf dem ständigen Niveau von 100—110 mm Hg erhalten konnte. Erst dann habe ich die Injektionen von Cocain, Novocain verabfolgt. Bei jedweder sensibilisierenden Wirkung hätte hierauf ein Ansteigen des Blutdrucks erfolgen müssen. Statt dessen sank der Blutdruck ab und die Wirkung des O.A. wurde durch Cocain sehr abgeschwächt.

Eine Katze (Abb. 4), deren Blutdruck nach Mg. Sulf.-Dekapitation 70 mm Kg betrug, erhielt 0,012 mg/kg O.A. pro Minute als Infusion, was

einen Anstieg des Blutdrucks auf 100 mm Hg bewirkte. 5, sodann 10 mg/kg Novocain senkten vorübergehend den Blutdruck; nach 5 mg Cocain trat aber eine anhaltende Blutdruckerniedrigung ein, so daß die zu infundierende Dosis auf 0,03 mg/kg O.A. erhöht werden mußte. Nun wurde 4 Stunden lang keine Infusion gegeben, sodann durch Infusion von 0,03 mg/kg O.A. pro Minute der Blutdruck auf 140 mm Hg erhöht. Nun wurden 4 mg/kg Yohimbin injiziert, worauf der Blutdruck absank; die Infusion von 0,07 mg/kg O.A. pro Minute vermochte keine nennenswerte Erhöhung zu erzielen. Durch eine in raschem Tempo verabfolgte intravenöse Injektion von 1 mg/kg O.A. ließ sich noch die gleiche Blutdruckerhöhung erzielen, wie durch eine darauffolgende Injektion von 50 γ/kg Adrenalin.

Somit ist die Wirkung des O.A. auch in dieser Hinsicht derjenigen des Veritols verwandt. Ihre Wirkung wird durch Mittel, welche die Sympathicusendigungen lähmen, Ergotamin, Yohimbin, vollständig oder fast vollständig gehemmt. Hingegen wird ihre Wirkung gegenüber Adrenalin durch Novocain und Cocain nicht sensibilisiert, eher noch abgeschwächt. Die Wirkung des O.A. scheint somit sowohl in einer Erregung der sympathischen Nervenendigungen, als auch in einer direkten ephedrinartigen Wirkung auf die glatte Muskulatur zu bestehen.

Zusammenfassung.

1. Das p- und m-Oxyphenylisopropylamin (O.A.) bewirkt eine Erhöhung des Blutdrucks und des Pulsvolumens. Seine Wirkung erwies sich in der Mehrzahl der Versuche als derjenigen des p-Oxyphenylisopropylmethylamins (Veritol) überlegen, stets aber als zumindest gleichwertig.

2. Selbst große, mit einer beträchtlichen Blutdruckerhöhung einhergehende Dosen rufen keine Arrhythmie hervor, im Gegenteil ließen sich bei dekapitierten Katzen spontan auftretende Arrhythmien durch kleine Dosen beheben.

3. Das O.A. bewirkt eine kräftige und anhaltende Milzkontraktion, wodurch es zur Zunahme der zirkulierenden Blutmenge kommt. Dies spielt in der langen Dauer des erhöhten Blutdrucks eine wichtige Rolle.

4. Im Gegensatz zu Adrenalin bewirkt O.A. eine Erweiterung der Nierengefäße.

5. Die Wiederholung der Injektion hat bei der Katze eine Tachyphylaxie zur Folge; dies kann wohl als Ergebnis einer anhaltenden Milzkontraktion und einer Anpassung an mehrere Stunden währende, veränderte Kreislaufverhältnisse betrachtet werden.

6. Der Wirkungsmechanismus ist demjenigen des Veritols verwandt und steht zwischen demjenigen des Adrenalins und Ephedrins.

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Bonn.

Homöopathische Arzneimittel-Nachprüfungen.

Von

P. Martini in Gemeinschaft mit **L. Brückmer, K. Dominicus, A. Schulte** und **A. Stegemann.**

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 20. März 1939.)

III. Schwefel.

„— — — — es besagt auch nichts gegen die Richtigkeit der von den vielen homöopathischen Prüfern, von H. Schulz[1] und seinen Mitarbeitern und schließlich von Riesser[2], Simonson[2 3 4] und Richter[3] bestimmten subjektiven Schwefelsymptome, wenn Gordonoff[5] nebst einigen Mitprüfern keine Schwefelsymptome beobachtet haben will. Es ist gar nicht zu bezweifeln, daß es auch bei richtiger Anstellung der Prüfung gegen Schwefel unempfindliche Naturen gibt. Was uns interessiert, sind aber die gegen Schwefel empfindlichen Personen und die Symptome, mit denen sie auf Schwefel reagieren[1])". Diese These Leesers[6] zeigt programmatisch die Richtlinien auf, denen eine Nachprüfung der homöopathischen Stellung zu folgen hat.

A. Wenn die These Leesers richtig ist — und von homöopathischer Seite kann sie nicht geleugnet werden, ohne das ganze gedankliche Gebäude der Homöopathie zum Einsturz zu bringen —, dann müssen sich notwendigerweise auch „bei den vielen homöopathischen Prüfern" in den Prüfungsprotokollen „die gegen Schwefel unempfindlichen Naturen finden", die bei Gordonoff und seinen Mitprüfern so sehr die Regel waren, daß diese Untersucher von den versprochenen und zu erwartenden Erscheinungen überhaupt nichts bemerkten.

B. Die Prüfung von H. Schulz[7] beruhte wie die früheren von Homöopathen ausgeführten fast durchaus auf subjektiven Erscheinungen. Sie unterschied sich von jenen durch den Anlauf zu einer unwissentlichen Versuchsanordnung. Deshalb und wegen der sonstigen Stellung des Verfassers erregten seine Arbeiten besonderes Aufsehen und wurden seitdem von den Homöopathen als Hauptargument der wissenschaftlichen Zuverlässigkeit der Homöopathie immer wieder angeführt. Es war deshalb

---

[1] Schulz, H.: Studien über die Pharmakodynamik des Schwefels. Greifswald 1896. — [2] Riesser u. Simonson: Verh. dtsch. pharmac. Ges. Rostock 1925. — [3] Simonson u. Richter: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **116**, 272 (1926). — [4] Simonson: Pflügers Arch. **214**, 403 (1926); Klin. Wschr. **5**, 2337 (1926). — [5] Gordonoff: Schwefeltherapie. Leipzig 1928. — [6] Leeser, O.: Lehrbuch der Homöopathie. Spez. Teil A, S. 286. Stuttgart-Leipzig 1933. — [7] Schulz, H.: l. c.

notwendig, gerade die Schulzschen Untersuchungen einer Nachprüfung zu unterziehen, die aber nicht nur einen Anlauf zu einer unwissentlichen Prüfung nahm, sondern diese Unwissentlichkeit wirklich durchführte und im Kontroversfalle deshalb größere Beweiskraft haben mußte als die Resultate von H. Schulz.

C. In einer Art von Fortsetzung der Arbeiten von H. Schulz wurde 30 Jahre später am gleichen Institut von Riessers Schülern Simonson und Richter[8] der Versuch unternommen, Beweise für eine „chronische Schwefelvergiftung" durch kleinste (homöopathische) Schwefelmengen zu erbringen. Diese Untersuchungen wurden nicht unwissentlich durchgeführt; die als Untersuchungsmethode angewandten Atmungs- und Gaswechseluntersuchungen werden zwar im allgemeinen zu den objektiven gerechnet, aber tatsächlich sind sie in hohem Maße von subjektiven Momenten abhängig, so daß auch hier von einer unwissentlichen Untersuchung zuverlässigere Ergebnisse zu erwarten waren. Bei dieser Gelegenheit wird auch zu untersuchen sein, inwieweit Simonson und Richters zahlenmäßige Ergebnisse die Schlüsse rechtfertigen, die die Autoren aus ihnen gezogen haben.

Die Wirkungen und das Schicksal größerer Mengen von Schwefel im Körper sind der Pharmakologie bekannt; die wichtigsten sind Umwandlung in H_2S durch Reduktion durch Bakterien und durch Eiweiß im Dünn- und im Dickdarm; H_2S regt die Dickdarmperistaltik an. Es wird teilweise durch den Darm ausgeschieden, teilweise resorbiert, oxydiert und so im Harn ausgeschieden; teilweise wird es auch unzersetzt durch Lunge und Haut ausgeschieden[9, 10]. Größere Mengen H_2S erzeugen Krämpfe und unter Umständen den Tod durch Lähmung des Atemzentrums.

In den letzten Jahren nahm die Wirkung kleiner Schwefelmengen das Interesse in Anspruch. Hierher gehören die Untersuchungen von Meyer-Bisch[11, 12, 13], von Heubner[13] und anderen über die Wirkung des Schwefels auf den Stoffwechsel, gemessen an der Abnahme des Quotienten C : N im Harn unter der Wirkung parenteraler Schwefelinjektionen. Die Folgezeit konnte keinen spezifischen Unterschied dieser Verabreichungen gegenüber anderen Formen „unspezifischer Reizkörpertherapie" finden. Die Schwefeldosen lagen hier bei etwa 5 mg, nur ausnahmsweise höher. Bei einer ähnlichen Größenordnung, teilweise aber bei erheblich kleineren (abwärts bis $^1/_{1000}$ mg subcutan und $^1/_{10000}$ mg intravenös pro kg Körpergewicht) bewegten sich die Schwefelgaben, von denen Bürgi[14, 15], Gordonoff[15] und Wüthrich[16] noch hypoglykämische Wirkungen berichtet

[8] Riesser, Simonson u. Richter: l. c. — [9] Bokay: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **23**, 209 (1887). — [10] Hefter: Ebenda **51**, 175 (1904). — [11] Meyer-Bisch: Z. Klin. Med. **94**, 236 (1922). — [12] Meyer-Bisch u. Basch: Biochem. Z. **118**, 39 (1921). — [13] Meyer-Bisch u. Heubner: Ebenda **122**, 120 (1921). — [14] Bürgi: Klin. Wschr. **47**, 20, 96 (1923). — [15] Bürgi u. Gordonoff: Ebenda **5**, 46, 2166 (1926). — [16] Wüthrich: Diss. Bern, Med. Fakultät 1927.

haben. Diese Mitteilungen sind von anderen bestritten worden. Eine klinisch-praktische Bedeutung haben sie jedenfalls nicht erlangt. Es ist wichtig, sich klar zu werden, bei welchen Dosen und bei welcher Anwendungsform von Meyer-Bisch einerseits, Bürgi und Gordonoff andererseits noch Wirkungen berichtet worden sind: Meyer-Bisch gab den Schwefel in den recht kleinen Mengen von etwa 5 mg aber durchweg subcutan; Bürgi und Gordonoff bzw. Wüthrich gaben teilweise außerordentlich kleine Mengen, aber diese immer parenteral (s. oben), während die von ihnen peroral verabreichten Mengen (mit 60—80 mg für einen erwachsenen Menschen) keineswegs besonders klein gewesen waren. Die Dosen waren hier also entweder nicht besonders klein, oder sie wurden parenteral beigebracht und waren auf diese Weise geeignet, Wirkungen auszulösen, die nicht mehr als spezifische Schwefelwirkungen zu gelten brauchten.

Zu A. Die bisherigen homöopathischen Arzneimittelprüfungen des Schwefels.

Als erster Pharmakologe machte H. Schulz[17] Untersuchungen über die chron. Schwefelwirkungen mit sehr kleinen peroralen Mengen. Seine Dosen lagen in einer 1. Versuchsreihe noch relativ hoch zwischen 10 und 60 mg täglich (Gesamtmenge in 4 Wochen 0,64—1,15 g S), in einer 2. bei 0,1—0,24 mg täglich (Gesamtmenge in 5 Wochen 0,035—0,087 g), in einer 3. Reihe bei 0,56 mg täglich (Gesamtmenge in 5 Wochen 0,196 g S) An der 1. Versuchsreihe waren 7 Prüfer beteiligt, 6 erhielten Schwefel in den soeben angegebenen Dosen, der 7. erhielt, ohne es zu wissen, reinen Milchzucker. Von der 2. Versuchsreihe von 10 Prüfern erhielten 8 Schwefel, 2, ohne es zu wissen, nur reinen Alkohol. In die 3. Versuchsreihe, an der sich H. Schulz selbst beteiligte, ist keine solche Kontrolle eingeschaltet. Alle Prüfer aller 3 Versuchsreihen, die Schwefel erhielten, zeigten Symptome in meist großer Menge, die 3 Prüfer, die unwissentlich nur Milchzucker oder Alkohol erhalten hatten, zeigten keinerlei Erscheinungen, mit Ausnahme von öfteren Stuhlentleerungen des Prüfers der Reihe 1, der statt der Schwefelverreibung reinen Milchzucker hatte. H. Schulz und seine Prüfer erhielten eine überreiche Ausbeute an Symptomen:

Von den nervösen Erscheinungen stehen im Vordergrund Kopfschmerzen; nicht weniger als 14 von 22 Prüfern klagen darüber; sie können sehr verschiedenen Charakter tragen, oft sind sie mit Hitzegefühl verbunden. Häufig wird über Schwindelanfälle berichtet, über Schlafstörungen und Müdigkeit, Reizbarkeit Nervosität, Hautprickeln; das Allgemeinbefinden war unter diesen Umständen meist getrübt. Dazu kamen Erscheinungen am Muskelsystem, Zerschlagenheit, rheumatisches Reißen, krampfartige Sensationen, unsicheres Gefühl im Kniegelenk usw. Am Kreislaufsystem kam es zu Kongestionen nach dem Kopf und

[17] Schulz, H., l. c.

Herzklopfen, vereinzelt Pulsunregelmäßigkeiten und unangenehmen Sensationen in der Herzgegend. Besondere Bedeutung legte Schulz den Pulsschwankungen während der Beobachtungszeiten bei: er stellte unter der Einwirkung des Schwefels Steigerungen der Wochen-Mittelwerte der Morgen- und Abendpulse fest und demonstriert die Schwankungen an Kurven, deren steile Anstiege und Abstürze beweisend für die Wirkungen des Schwefels sein könnten, wenn sie nicht auf ganz unmöglicher Grundlage aufgebaut und in einem ganz irreführenden Verhältnis der Maßstäbe von Ordinate und Abszisse gezeichnet wären. Hätte Schulz auch einige klinische Erfahrungen gehabt, dann hätte er Wochendurchschnittskurven für Pulsfrequenzen in diesem Zusammenhang überhaupt nicht angewandt, er hätte die Streuungsbreiten der durchschnittlichen Pulszahlen wenigstens beispielsweise angegeben und hätte uns nicht Pulskurven vorgelegt, die gegenüber den Pulskurven, die sonst üblich sind, einen[18] ganz falschen Eindruck erwecken müssen. An den Respirationsorganen zeigten sich Katarrhe fast in der Hälfte aller Fälle, dazu zweimal Seitenstechen und Atembeklemmung. Häufig waren auch die Symptome von seiten der Verdauungsorgane: neben selteneren Erlebnissen wird in der Regel verminderte Eßlust angegeben. Tabak und auch das gewohnte Bier werden schlechter vertragen, Übelkeit und Erbrechen können auf Biergenuß eintreten. Zwei Versuchspersonen hatten stärkere schmerzhafte Magenaffektionen. Als erste Wirkung wird häufig Stuhlverstopfung angegeben, später wechselt Obstipation mit breiigen, ja mit ausgesprochen diarrhöischen Stühlen. Dazu kommen stärkere Gasbildung, Meteorismus, Stuhldrang und Tenesmen. Wiederholt wurde sowohl an den entleerten Darmgasen, wie an den Stühlen Geruch nach Schwefelwasserstoff beobachtet, und das gleiche wurde in den ersten Tagen nach Beginn der Schwefelaufnahme vom Harn gemeldet. Mehrmals wurde dunkle Verfärbung des Harns gemeldet, Harndrang, Schmerz in der Harnröhre usw. Vom Sexualgebiet wurden nur von den Beobachtern der 3. Reihe Merkmale berichtet: Erektionen, abnorm häufige Ejakulationen, Schmerzempfindungen im linken Samenstrang und dem entsprechenden Hoden. An der Haut traten Veränderungen nur in geringer Zahl auf Eine Versuchsperson wurde ihre Akne los, bei anderen entwickelten sich dagegen leichte Knötchen = Ausschläge, auffällige Trockenheit und leichtes Hautjucken wurden in je einem Fall beobachtet. Furunkulose usw. hat H. Schulz selbst offenbar nicht beobachtet, er führt dies auf die Kürze der Beobachtungszeit zurück. Die hier aufgeführten Symptome sind nur der kleinere Teil der von Schulz registrierten.

Aber die Schulzsche Liste ist denoch ärmlich zu nennen gegenüber den Symptomenverzeichnissen der Homöopathen selbst. Hahnemann[19] eröffnet sie mit 1041 Symptomen; er verliert über die Dosen, mit denen die Prüfungen durchgeführt worden sind, kein Wort, aber aus der Gesamthaltung der Arbeit und aus dem, was zu den therapeutischen Dosen gesagt wird, ist mit großer Wahrscheinlichkeit zu schließen, daß mit sehr hohen Verdünnungen gearbeitet worden ist (vielleicht mit Tinct. Sulph. D. 10, wobei schon die Tinktur selbst nur einen sehr kleinen Schwefelgehalt gehabt haben kann). Von den späteren Untersuchungen[20] sind nur noch

[18] Siehe Anmerkung 24, S. 437. — [19] Hahnemann: Reine Arzneimittel lehre 1818 und Die chron. Krankheiten, IV, S. 335 (1830). — [20] Abegg: Allg. homöop. Ztg **179**, 394; Arbly: Ebenda **179**, 210; Bier: Münch. med. Wschr. **1930**, S. 38, 41, Nr. 37; Böcker: Hygea **22**, 305, 411, 513 (1847); L. J. Boyd: Allg. homöop. Ztg **80**, 41 (1870); Groß: Arch. homöop. Heilkunst **19**, 186, H. 3 (1841); Hartlaub u. Trinks: Reine Arzneimittellehre, Bd. 3 (1831); Helbig: Heraklides **1833**, S. 64; Henke: Allg. homöop. Ztg. **55**, 14 (1858); Knorre: Ebenda **6**, 37 (1835); Sommer: Neues Arch. homöop. Heilkunst **1**, 108; Wurmb: Z. d. Vereins d. homöop. Ärzte Österreichs **1**, 19, 97, 193, 413 (1857).

die von L. J. Boyd, Böcker und Wurmb einer weiteren Erwähnung wert. Nur sie bringen neue Momente in die Erörterung; die übrigen teilen größtenteils überhaupt nichts über ihre Dosierungen mit, oder sie bringen nur kurze uncharakteristische Symptomenverzeichnisse, oder es handelt sich um so einmalige und unbeweisende Vorgänge, daß sie trotz aller Dramatik nicht als verwertbare Beweise geachtet werden können. Böcker vermißt subjektive Erscheinungen fast durchaus; er versucht aber als Erster (1847), objektive quantitativ-chemische Harn-Blutuntersuchungen mit heranzuziehen; da aber weder seine Versuchspersonen auf konstante Nahrung eingestellt waren, da außerdem die Unterschiede der Analysenergebnisse meist innerhalb der Fehlerbreite der Methodik liegen, ist auch diese Arbeit als ergebnislos anzusehen. Boyd fällt aus der Reihe durch seinen Versuch, die suggestiven Fehlerquellen durch eine Art von Gegensuggestion auszuschalten: alle Versuchspersonen wußten, daß sie Schwefel bekamen und auch in welcher Dosis (1 mg pro Dosis; D_3 in Tabletten); gleichzeitig aber wurde ihnen gesagt, daß eine abführende Wirkung erst von einer 1000fach größeren Dosis zu erwarten sei, daß es $^1/_2$ Jahr dauern werde, bis eine Wirkung eintreten könne. Eine solche Aufklärung braucht sich offenbar durchaus nicht in der Richtung einer absoluten, voraussetzungslosen, unparteiischen Haltung auszuwirken; je nach der sonstigen Einstellung, nach Charakter und Temperament können sich von hieraus die verschiedensten bewußten und unbewußten Einflüsse geltend machen. Leider ist von Vorbeobachtungen auch hier keine Rede. Bemerkenswert ist, daß bei Boyd von seinen 114 Prüfern — lauter Studenten der Medizin — einerseits 24 keinerlei subjektive noch objektive Erscheinungen bekamen, daß andererseits bei 27 der Prüfer Hautausschläge auftraten (3mal Erythem, 5mal Akne, 16mal Furunkel); bei 6 anderen verschwand eine alte Akne „teils endgültig, teils vorübergehend". Die vermehrten Stühle und Durchfälle, die bei 18 Prüfern auftraten, waren bei so erheblichen Schwefelmengen fast selbstverständlich. Die übrigen Symptome boten nichts Bemerkenswertes.

Schließlich bleibt Wurmb; er hat zusammen mit 23 anderen Untersuchern eine Arbeit geleistet, der man nicht nur wegen ihrer Ausdauer, sondern mehr noch wegen der großen Dosen, die manche Untersucher — an 1. Stelle ist da immer der ausgezeichnete v. Zlatarowitch zu nennen — genommen haben, die Hochachtung nicht versagen kann. Es ist ein Jammer, daß eine so ungeheure Arbeit in so unvollkommener Versuchsanordnung durchgeführt wurde. Fast selbstverständlich ist auch hier nur von einem Ansatz zu unwissentlicher Beobachtung keine Rede. Hautsymptome waren bei Wurmb und seinen 23 Mitprüfern im Gegensatz zu den Ergebnissen Boyds und anderer eine große Seltenheit. Wichtiger aber ist, daß kein einziger der 24 Prüfer sich findet, der nicht bei der einen oder anderen Potenz (oder Dosis) Symptome verspürt hätte. Das Ausbleiben von Symptomen — abgesehen von den (bewußt genommenen) ganz hohen Potenzen D_{100}, D_{400}, D_{800}, ist eine ganz große

Tabelle 1.

Nr.		Dezimalpotenzen	Substanz	Tinktur	
1	Arigler.....		1 Messerspitze		
2	Arneth	[800, 400] **31, 13, 3**	2×10 bis 1×20 g		
3a	Garey	**6 u. 8**	1—2 Unzen		
3b			5—10 g		
4	Gottwald.....	1 u. 3			
5	Haussmann ..	16, 5, 14, 13, 12, 11, 10, 6, 1			
6a	Huber, We....	[6], 5, 4, 1, 6, 5, 4, 3, 2, 1	100—400 Tr.		Bei d. 2. Dosis von 400 Tr. erst Durchfall
6b	Huber, W. Frau	6, 5, 4			
7	Huber, Wi ...	**101 u. 102** Verd, **6, 5, 4, 3, 1**			
8	Köstler		5—20 g	Dosis ?	
9	Kury.....		[5], 20, 30 g		
10	Landesmann .	4 Verd.; 1 Verr.	10—20—30 g	10 —100 Tr.	
11	Mayrhofer ...	**1**	**2—14** g		
12a	Müller, J. O...	[100, 30] **6**			
12b		**1 Verr. 2 Verr.**			
13	Dr. N.....			3—10 Tr.	
14	Reiß, S.....	31 Verd.	10—20 g		Sympt. ähnl. bei Verd. u. Substanz
15	Riedlinger ...			**1 Tr.**	
16	Schlesinger ..	[403] Verd. 6 u. 3 Verr.?	bis 2 Drachmen tägl.	**5**—10 —20 Tr.	„Allopath. Arzt“
17	Schweikofer .	[400], 200, 100, 60, [30, 20, 15, 12, 6]			
18	Seydl.....		1 Messerspitze bis 1 Kaffeel.?	10 Tr. nichts Bes.	
19	Sterz.....	[30, 20, 15, 10] 6 Verd. (?), [3] 2 Verr.		19–35 Tr.	
20	Wachtel.....	12, **404**, 3			
21	Wenzl.....	**31**			
22	Weinke.....	1 u. 3 Verr.			
23	Wurmb.....	1 Verr. **800** [400, 200, 100, 50, 30], **12**, 3, Verr.	1 Skrupel bis 1 Drachme 21 Tage		
24	Zlatarovitsch	1 Verr., 1 Verd.	5—200 g tägl. (in 4 Mon. 24 × 120 g u. 2 × 200 g)	10 Tr. tägl.	

Die Zusammenstellung enthält sämtliche Teilnehmer der großen Schwefelprüfung, die von Wurmb durchgeführt bzw. gesammelt wurde. Sie zeigt einerseits die bei den Prüfungen verwandten Dosen. Dosen, auf die keine Symptome auftraten, sind in Klammern [ ] gesetzt; Dosen, auf die deutliche Symptome erschienen sind, in gewöhnlichem Druck, solche, auf die sehr starke Symptome angegeben wurden, sind in Fettdruck wiedergegeben. Es zeigt sich deutlich, daß das Auftreten von Symptomen auch bei ganz kleinen Dosen so allgemein ist, daß die Annahme einer individuellen Schwefelempfindlichkeit aus den Prüfungsprotokollen keinerlei Berechtigung erhält.

Seltenheit. Die Tabelle 1 gibt einen Überblick darüber und gleichzeitig auch einen Einblick in die extremen Variationen von den höchsten Potenzen bis zu schon toxikologisch großen Dosen, in denen hier Mittel bei einer der klassischsten homöopathischen Arzneimittelprüfungen genommen wurden.

In dem Schrifttum der homöopathischen Arzneimittelprüfungen haben wir die von Leeser als Notwendigkeit zugegebenen „gegen Schwefel unempfindlichen Personen" entweder nicht, oder doch als so seltene Ausnahmen gefunden, daß auch bei einer unwissentlichen Prüfung — und zwar auch bei homöopathisch kleinen Dosierungen — Schwefelsymptome als die Regel und Fehlen solcher Symptome als große Ausnahmen erwartet werden konnten.

Zu B. Die Nachprüfung der Arzneimittelprüfung des Schwefels von H. Schulz.

Es ist sicher merkwürdig genug, daß von den gesamten 24 Versuchspersonen von H. Schulz nur 3 und gerade die 3, die unwissentlich keinen Schwefel erhalten haben, keine Symptome zeigten. Nachdem dieser Versuch als einziger unter allen gleichgerichteten das Prädikat der Unwissentlichkeit trug, so war es nicht verwunderlich, daß ihm von allen Seiten ein großes Gewicht zugebilligt wurde. Falls die „Unwissentlichkeit" dieser Versuche wirklich reale Tatsache war, so besteht eine solche besondere Bewertung ohne Zweifel auch zu Recht. Wir halten jedoch die Versuchsanordnung, wie sie von H. Schulz durchgeführt wurde, für ungenügend, und seine „Unwissentlichkeit" für eine lediglich formale.

H. Schulz selbst charakterisiert in den „Studien zur Pharmakodynamik des Schwefels" die Gefahren, die bei einem Studium von Arzneiwirkungen am Menschen drohen, treffend:

„Jeder Mensch, der weiß, daß er in seinen Organismus etwas aufgenommen hat, von dem erwartet wird, daß es irgendwelche Veränderungen im gewohnten Befinden hervorrufen soll, wird dadurch in seinem Urteil befangen. Er braucht zudem am Ende gar nicht zu wissen, was er eigentlich bekommen hat und was etwa als Wirkungsäußerung zu erwarten steht. Je nach seiner Eigenart und dem Standpunkt seiner Bildung und Beobachtungsgabe wird er aufmerksam sein auf alle möglichen wirklichen und gedachten Abweichungen seines Befindens von der Norm. Selbst völlig normale, aber ihrer Geringfügigkeit wegen sonst nicht weiter berücksichtigte Erscheinungen werden unter diesen Umständen möglicherweise als etwas ungewohntes Krankhaftes gedeutet werden. Man kann sich je nach der Individualität allerlei einbilden, als ein Opfer der mit besonderer Vorliebe gegen die Selbstversuche hervorgeholten Autosuggestion. Ferner kann eine zufällig in die Prüfungszeit hineingeratene, anderweitig begründete krankhafte Affektion als eine Wirkung des gerade in Prüfung stehenden Mittels angesehen werden. Diese Einwände sind ohne Ausnahme voll berechtigt."

Zur Ausschaltung dieser grundsätzlichen Fehlerquelle hat H. Schulz, wie erwähnt, 3 von den 24 Prüfern ohne ihr Wissen ein Pseudomittel statt Schwefel gegeben. H. Schulz hat die Gefahren der Suggestion genügend

gefürchtet, aber erkannt hat er sie nicht. Nach seinen eigenen obigen Ausführungen war von vornherein selbstverständlich, daß man auch ohne wirksames Mittel, allein schon durch ein Scheinmittel bzw. durch die Suggestion eines Mittels bei den meisten Menschen subjektive Symptome erhalten wird. Was hatte es in solcher Lage für einen Zweck, an irgendwelchen drei Versuchspersonen (VII, VIII und IX) diese grundsätzliche Selbstverständlichkeit nochmals bestätigen zu wollen? An der Tatsache, daß gerade diese 3 Kontroll-(Leer-) Versuchspersonen keine Erscheinungen (mit Ausnahme von Durchfällen bei VII, die vielleicht vom Milchzucker stammten) bekamen, ist höchstens das eine merkwürdig, eben daß sie überhaupt keine Symptome verspürt haben wollten, was in Gegensatz steht zu den sonst üblichen Wirkungen der Suggestion, zu H. Schulz' Voraussagen und auch zu unseren fast regelmäßigen Erfahrungen. Darüber hinaus sagt diese Tatsache gar nichts aus, vor allem auch gar nichts über die anderen 21 Versuchspersonen, deren individuelle, seelische und körperliche Reaktionen durchaus nicht gemessen werden konnten an irgendwelchen 3 anderen Vergleichspersonen. Auch der Umstand, daß die Prüfer der 2. und 3. Reihe nicht wußten, was für ein Medikament sie erhielten, war nicht imstande, eine tatsächliche Unwissentlichkeit zu garantieren. Sie wußten zwar nicht, daß sie Schwefel bekamen, aber sie wußten bzw. glaubten, daß sie irgendein Medikament zur Prüfung erhielten. Das reicht nach unseren Erfahrungen durchaus, um eine erhebliche Menge von Symptomen erwarten zu lassen.

Einer so gewonnenen Symptomensammlung hätte höchstens dann überzeugende Kraft zuerkannt werden können, wenn sich aus dem Vergleich der vielen Protokolle ein wirklich spezifisches Bild herausgeschält hätte. H. Schulz glaubte auch, aus seinen Ergebnissen auf eine solche Spezifität schließen zu können: „. . . . zeigt es sich dann, daß es (das Mittel) in allen oder doch den überwiegend meisten Fällen immer an demselben Organ anfaßt und dort Störungen und Abweichungen vom gewohnten Verhalten hervorruft, so ist damit der Beweis erbracht, das geprüfte Mittel wirkt auf das bestimmte Organ ein." Nach dieser optimistischen Versprechung ist man um so enttäuschter, wenn man die Versuchsprotokolle von H. Schulz übersichtlich ordnet. Dabei zeigt sich überhaupt nur bei den ersten 6 Prüfern, d. h. bei denen, die mit dem Schwefel Milchzucker in nicht ganz kleinen Mengen — bis 6 g Milchzucker täglich — erhalten hatten, eine gewisse Einheitlichkeit: Lauter Erscheinungen von seiten des Magendarmkanals, die bei Milchzucker wirklich nichts Neues bedeuten könnten. Während der 2. und 3. Periode waren dagegen die Erscheinungen beschränkt auf „einige Male leichte Verstopfung" und „einige Male breiige Stühle", also Vorkommnisse, die zu alltäglich sind, um auf eine Organspezifität schließen zu lassen. Was aber sonst noch berichtet wurde, war entweder zu banal oder zu sporadisch oder innerhalb der besonderen Lebensverhältnisse der Studenten zu verständlich, um außerhalb einer voreingenommenen Einstellung als durch den Schwefel hervorgerufen angesehen zu werden.

In solcher Lage blieb uns nichts anderes übrig als die Versuche von H. Schulz wenigstens teilweise zu wiederholen.

Die Versuchsanordnung war grundsätzlich die gleiche wie früher[21]. Die 10 Prüfer waren hier durchweg Studenten, die alle durch Handschlag zur reinen Wahrheit verpflichtet waren. Die verabreichte Schwefeldosis war bei 9 von 10 Prüfern einheitlich und gleichmäßig; in 21 Tagen wurde in täglichen Dosen von je 0,0035 g Schwefel als Tinktur[22] den Prüfern in einer Gesamtmenge von 0,0735 g verabreicht. Als Scheinmittel wurde 30%iger Alkohol gegeben; er war geschmacklich und dem Aussehen nach von der Schwefeltinktur nicht zu unterscheiden. Wir haben so wie H. Schulz in seinen späteren Versuchsreihen hier nicht nur auf die subjektiven Erscheinungen geachtet, sondern auch die Pulsfrequenz laufend verfolgt. Prüfungsleiter war A. Stegemann.

Prüfer I. A. K. cand. med., 24 Jahre, 1,74 m, 68 kg. Familien- und eigene Anamnese o. B. Wenig Alkohol und Nikotin. Abgehärtet, ernst, ruhig, verläßlich, etwas mißtrauisch.

Beobachtungsdauer 49 Tage: 7 Tage reine Vorbeobachtung ohne Scheinmittel, 21 Tage Alkohol als Scheinmittel, 21 Tage Schwefel tägl. 0,0035 g.

Während der verschiedenen Scheinperioden wurden nur einmal leichte Kopfschmerzen angegeben. Diese traten während der Schwefelverabreichung wieder dreimal auf, er fühlte sich gleichzeitig müde und matt; in dieser Periode kam es von der Mitte der 2. Woche an viermal zu Diarrhoen. Das Gewicht der Symptome liegt hier in der Schwefelperiode, besonders die Diarrhoen sind nur dieser vorbehalten.

Prüfer II. H. C., cand. med., 25 Jahre, 1,89 m, 72 kg. Familie o. B. Als Kind englische Krankheit. Guter Schwimmer. Wenig Alkohol, viel Zigaretten. Neigung zu Erkältungskrankheiten. Leicht nervös, verläßlich, eifrig, etwas zu selbstbewußt. Beobachtungsdauer 49 Tage; Art der Verabreichung wie bei Prüfer I.

Während der 2 Scheinperioden häufig (fast täglich) leichtes bis mittelstarkes Nasenbluten, mehrmals weicher Stuhl. Die Schwefelperiode war völlig frei von Beschwerden. Hier waren die Scheinperioden den Schwefelperioden offenbar „überlegen".

Prüfer III. E. W., stud. jur., 23 Jahre, 1,80 m, 65 kg. Familien- und eigene Anemnese o. B. Wenig Alkohol, kein Nikotin. Neigt zu Erkältungskrankheiten. Leicht beeinflußbar, ruhig, empfindlich, unentschlossen.

Beobachtungsdauer 49 Tage: 7 Tage Vorbeobachtung ohne Scheinmittel, 7 Tage Alkohol, 7 Tage Schwefel, 14 Tage Alkohol, 14 Tage Schwefel; Schwefel wiederum tägl. 0,0035 g.

Die besonders symptomenreiche Prüfung läßt sicher keine größere Häufigkeit in den Schwefelperioden erkennen, eher im Gegenteil.

Prüfer IV. stud. phil., 24 Jahre, 1,71 m, 67 kg. Familienanamnese o. B. Etwas Sport. Wenig Alkohol und Nikotin. Keine besondere Krankheitsbereitschaft. Still, zurückhaltend, schüchtern, feinfühlig, sich selbst genau beobachtend.

---

[21] Martini, P.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 142ff. (1938). — [22] Die Tinktur entsprach durchaus der in der 2. Reihe von H. Schulz verwendeten: 0,035 g Schwefel auf 100 ccm Alkohol, das wäre in homöopathischer Nomenklatur 3.—4. Potenz, davon täglich 10 ccm. Wir gaben also etwas größere tägliche Dosen wie H. Schulz, die insgesamt verabreichten Schwefelmengen waren die gleichen (bei uns 0,0735 g, bei H. Schulz 0,035 g bis 0,0875 g pro Prüfer). Unsere Gesamtprüfungszeiten waren durch die langen Kontrollzeiten länger (7 Wochen) als die von H. Schulz (3—4—5 Wochen); die Zeit der eigentlichen Schwefelverabreichung aber war bei uns kürzer (3 Wochen).

Beobachtungsdauer 49 Tage. Verteilung der verschiedenen Perioden wie bei Prüfer III. Schwefeldosis tägl. 0,0035 g.

Während der Scheinperioden Benommenheit im Kopf, mehrfach Kopfschmerzen (durch Alkohol am Vortag?), einmal leichte Magenschmerzen, einmal Druck in der Magengegend, vereinzelt müde und schlechter Stimmung. Die

Schwefeltinktur täglich 10 ccm = 0,0035 g S	Kein oder Scheinmittel Kein Mittel
	7. u. 8. III. vergnügt, körperliches Wohlbefinden. P. 78.
	9. III. morgens leichte Kopfschmerzen.
	10. III. vorübergehende Mißstimmung.
	11. III. o. B.
	12. III. sehr vergnügt, abends müde.
	13. III. o. B.
	Alkohol als Scheinmittel
	14. III. unruhiger Schlaf.
	15. III. gut gelaunt.
	16. III. leichte Kopfschmerzen, geringer Appetit.
	17. III. schlecht gelaunt, abends müde.
	18. III. tagsüber müde, abends unruhig.
	19. III. leichte Kopfschmerzen.
	20. III. o. B.
21. III. leichte Kopfschmerzen, Hungergefühl.	
22. III. o. B.	
23. III. mittags Müdigkeit und Unlust.	
24. III. leichte Kopfschmerzen am Morgen.	
25. III. o. B.	
26. III. o. B.	
27. III. gut gelaunt, abends großer Durst.	
	28. III. mittags leichte Übelkeit.
	29. III. o. B.
	30. III. o. B.
	31. III. großer Appetit, etwas Müdigkeit.
	1. IV. o. B.
	2. IV. körperliche Müdigkeit.
	3. IV. vergnügt, abends besonders guter Appetit.
	4. IV. körperliches Wohlbefinden.
	5. IV. leichte Magenverstimmung am Vormittag.
	6. IV. o. B.
	7. IV. körperliche Müdigkeit, großer Appetit.
	8. IV. abends große Müdigkeit.
	9. IV. o. B.
	10. IV. Wohlbefinden.

11. IV. Magenverstimmung, unruhig geschlafen.
12. IV. leichte Magenverstimmung.
13. IV. leichte Kopfschmerzen am Morgen.
14. IV. o. B.
15. IV. schlecht geschlafen, großer Appetit.
16. IV. abends müde.
17. IV. Druck in Magengegend am Vormittag, nachts schlecht geschlafen.
18. IV. großer Appetit.
19. IV. großer Appetit.
20. IV. o. B.
21. IV. arbeitsunlustig, dabei großer Appetit.
22. IV. o. B.
23. IV. o. B.
24. IV. Kopfschmerzen am Tage.

Schwefelperioden waren symptomärmer, einmal benommener Kopf und Magenschmerzen (durch Alkohol am Vortag?), einmal Kopfweh (Erkältung).

Prüfer V. H. C., stud. med., 23 Jahre, 1,67 m, 66 kg. Familien- und Eigenanamnese o. B. Mäßig Sport. Wenig Alkohol und Nikotin. Abgehärtet. Keine Disposition zu bestimmten Krankheiten. Still, unentschlossen, gutmütig, leicht beeinflußbar, verläßlich.

Beobachtungsdauer 49 Tage: 7 Tage Vorbeobachtung ohne Scheinmittel, 7 Tage Schwefel, 21 Tage Alkohol, 14 Tage Schwefel. Schwefeldosis 0,0035 g täglich.

Während der Scheinmittelperioden: Schlechte Stimmung, Schnupfen und Husten, Kopfschmerzen, zweimal schlechter Schlaf, zweimal Müdigkeit (zweimal besonders in den Waden), Einschlafen der li. Hand. In der Schwefelperiode gehobene Stimmung, Arbeitseifer aber auch Arbeitsunlust, leichte Kopfschmerzen, Ermüdung am Nachmittag, vermehrte Peristaltik auf Zigarre: keine Überlegenheit gegenüber Scheinmittelperiode.

Prüfer VI. H. R., cand. med., 26 Jahre, 1,78 m, 71 kg. Familienanamnese o. B. Mit 18 Jahren Stirnhöhlenentzündung. Früher viel Sport. Wenig Alkohol, kein Nikotin. Ruhig, verläßlich, eigenbrödlerisch, kritisch.

Beobachtungsdauer 49 Tage; Periodenverteilung wie bei Prüfer V, tägliche Schwefeldosis immer 0,0035 g.

Sowohl während der Schein- wie während der Schwefelperioden tägliche Klagen über Schnupfen, Niesen, Stirnkopfschmerz, rauhen Hals, Heiserkeit, Gesichts- und Kopfschmerz. Es handelte sich offenbar um eine verschleppte Erkältungskrankheit. Eine günstige oder auch ungünstige Änderung im Krankheitsablauf nach der Schwefelverabreichung war nicht zu erkennen.

Prüfer VII. I. G., cand. med., 25 Jahre, 1,75 m, 68 kg. Familien- und Eigenanamnese o. B. Kein Sport, Viel Alkohol und Nikotin. Gutmütig, gesellig, leichtsinnig, triebhaft, energielos.

Beobachtungsdauer 49 Tage: 7 Tage auch ohne Scheinmittel, 14 Tage Alkohol, 7 Tage Schwefel, 7 Tage Alkohol, 14 Tage Schwefel. Schwefeldosis 0,0035 g pro die.

Während der Kontrollperioden mehrmals Kopfschmerzen (vom Alkohol des Vortages?), wiederholt müde und abgespannt, leichte Erkältung. In den Schwefelzeiten die gleichen Erscheinungen, eher noch gelinder ausgeprägt.

Prüfer VIII. I. G., stud. jur., 22 Jahre, 1,70 m, 60 kg. Familienanamnese o. B. Als Kind englische Krankheit. Früher viel Sport. Mäßig Alkohol, viel Nikotin. Abgehärtet und widerstandsfähig. Astheniker. Kritisch, etwas leichtsinnig, zu Widersprüchen neigend.

Beobachtungsdauer 49 Tage; Periodenverteilung wie bei Prüfer VII. Schwefeldosis 0,0035 g täglich.

Während der beiden ersten Kontrollperioden (7 Tage kein Mittel, 14 Tage Alkohol) verzeichnete der Prüfer wiederholt Müdigkeit, Kopfschmerzen, einmal Leibschmerz und ein anderes Mal Appetitlosigkeit. Die dann folgende 7tägige 1. Schwefelperiode verlief ganz symptomenfrei, und in der 3. Kontrollperiode wurde nur einmal über Müdigkeit geklagt. In der 14tägigen 2. Schwefelperiode kam es schon am 2. Tage zu krampfartigen Leibschmerzen, die mehrere Tage anhielten, um gegen Ende der Periode noch zweimal in leichter Form aufzutreten; dabei wurde gelegentlich auch über starke Müdigkeit geklagt. Die Gesamtmenge der Symptome war während der Schwefelverabreichung nicht vermehrt, die Leibschmerzen aber traten in dieser Zeit erheblich stärker auf als in den Kontrollperioden. Daß sie schon am 2. Tage der 2. Schwefelperiode einsetzten, spricht nicht für ihre Abhängigkeit vom Schwefel.

Prüfer IX. H. H., stud. geod., 23 Jahre, 1,87 m, 72 kg. Familienanamnese o. B. Mit 17 Jahren Gelbsucht, mit 19 Jahren Furunkulose. Leistenbruch. Kein Sport. Wenig Alkohol und Nikotin. Wenig abgehärtet. Leicht beeinflußbar, etwas oberflächlich, unselbständig, gutmütig.

Beobachtungsdauer 49 Tage; Periodenverteilung und Schwefeldosis wie bei Prüfer VII.

Während der Kontrollperioden einmal leichte Kopfschmerzen, wechselnde Stimmung; Schwefelperioden symptomenfrei.

Prüfer X., stud. theol., 23 Jahre, 1,71 m, 61 kg. Familien- und Eigenanamnese o. B. Kein Sport, reichlich Alkohol, wenig Nikotin, wenig abgehärtet. Verläßlich, bescheiden, gutmütig, etwas leichtsinnig. Der Prüfer trat später wie die anderen in den Versuch ein, daher auch die verschiedene Anordnung der Perioden.

Beobachtungsdauer 13 Tage: 7 Tage tägl. 0,0035 g Schwefel, dann 6 Tage Alkohol.

Am 1. Tage der Schwefeleinnahme heftige Kopfschmerzen (tags zuvor anstrengende Radtour), die am 2. Tage nachlassen. Am 4. Tage klagte der Prüfer über heftige Magenschmerzen, fühlte sich in den beiden nächsten Tagen nur etwas erkältet, um vom 7. und letzten Tage der Schwefeleinnahme an wieder Magenschmerzen, jetzt mit Durchfall, zu bekommen. Die Magenschmerzen halten während der ganzen folgenden (unwissentlichen) Alkoholscheinmittelperiode (täglich 10 ccm) an, so daß er die weitere Einnahme des Mittels (Alkohol) ablehnt; 3 Tage nach Absetzen der täglichen 10 ccm Alkohol sind die Magenschmerzen verschwunden. Die beherrschende Rolle der Suggestion ist hier offenbar.

Es dürfte kein Wort mehr darüber zu verlieren sein, daß unsere Prüfungsergebnisse eine Wirksamkeit homöopathischer Schwefeldosen (in der gleichen wie der von H. Schulz verwandten Größenordnung) durchaus verneinen. Es kann nicht bestritten werden, daß die von uns eingeführte Versuchsanordnung in bezug auf Sicherung gegen Selbsttäuschung der

von H. Schulz weit überlegen war. Das heißt aber nichts anderes, als daß unsere Ergebnisse glaubwürdiger und zuverlässiger sind wie jene. Erst recht stellen sie das, was die älteren homöopathischen Prüfer über die Wirkung so kleiner (etwa D_3) Schwefeldosen mitgeteilt haben, als Phantasiegebilde dar.

Wir haben auch täglich die Pulsfrequenz fortlaufend registriert, jedoch konnten wir so wenig, d. h. nichts von den Angaben, die H. Schulz dazu gemacht hat, bestätigen, daß wir darauf verzichten können, hier mehr als das negative Ergebnis mitzuteilen[23, 24]. Des weiteren wurden fortlaufende Prüfungen der Blutkörperchensenkung, des roten und weißen (quantitativen und qualitativen) Blutbildes vorgenommen. Das Ergebnis war durchaus das gleiche: bei Berücksichtigung der unvermeidbaren, teils physiologischen, teils technisch bedingten Streuungen konnte auch hier keinerlei Wirkung des Schwefels gefunden werden[23].

Zu C. Änderungen des Gasstoffwechsels durch homöopathische Schwefeldosen?

Ich habe schon oben Bedenken geäußert gegen die Simonson-Richterschen Untersuchungen über den Energiehaushalt des Menschen, der unter homöopathischen kleinen Schwefelmengen steht; auch bei ihnen hatte ich die Unwissentlichkeit der Methode für eine wenn nicht unentbehrliche, so doch höchst wünschenswerte Voraussetzung gehalten. Simonson und Richter bestätigen dies selbst „— — — — eine weitgehende Sicherheit in dieser Hinsicht (scil. in bezug auf die Unwissentlichkeit der Versuchspersonen) ist um so mehr erforderlich, als derartige Versuche, wie schon H. Schulz[24] zeigte, oft mit unangenehmen subjektiven Symptomen einhergehen und daher ein gewisses Maß von Selbstüberwindung erfordern können". Eine solche Einstellung begründet eine Art von Erwartungspsychose und ist sicher nicht geeignet, so fein abgestimmte und so beeinflußbare Vorgänge wie die Atmung und den Stoffwechsel unberührt zu lassen.

Simonson und Richter haben an 3 Versuchspersonen, wovon sie selbst 2 stellten, während O. Riesser die 3. war (in 4 Versuchen) die durch „chronische Schwefelvergiftung" bedingten Veränderungen des O-Verbrauchs und der CO_2-Ausscheidung bei Ruhe und bei einer relativ kleinen Arbeit, sie haben ferner den Ablauf der Rückkehr zu normalen Werten und die gleichzeitigen Änderungen der Ventilationsvolumina und der Atemfrequenz verfolgt.

---

[23] Die Einzelheiten darüber sind enthalten in A. Stegemann: Homöopathische Schwefelwirkungen? Diss. Bonn 1939. — [24] Die von H. Schulz in seinen Pulskurven verwandten Maßstäbe weichen derart von den üblichen ab, daß der unvoreingenommene Betrachter notwendigerweise zu einem ganz falschen Eindruck der Pulsbewegungen kommt. Schulz hat die Ordinate (auf der die Pulsfrequenzen verzeichnet sind) gegenüber der Abszisse (auf der wie immer die Zeit aufgezeichnet ist) geradezu gewaltig bevorzugt: während in den sonst üblichen Fieberkurven sich die Maße von 1 Tag zu 10 mm Hg ungefähr wie 1 : 1 verhalten, verhielten sie sich bei H. Schulz wie 1 : 75, d. h. jede kleine Pulsbeschleunigung erscheint bei ihm gegenüber den sonst gewohnten Bildern um das 75fache (!) verstärkt!

Die Gesamtdauer der einzelnen Versuche betrug 8—10 Wochen. Davon entfielen im

1. Versuch, E. S., 35 Tage auf die Schwefelverabreichung mit insgesamt 0,0565 g S[25] in 150 ccm Alkohol,
2. Versuch, O. R., 31 Tage auf die Schwefelverabreichung mit insgesamt 0,063 g S in 180 ccm Alkohol,
3. Versuch, O. R., 33 Tage auf die Schwefelverabreichung mit insgesamt 0,162 g S in 462 ccm Alkohol,
4. Versuch, F. R., 22 Tage auf die Schwefelverabreichung mit insgesamt 0,063 g S in 180 ccm Alkohol.

Die gesamte Schwefelgabe entspricht ungefähr den größeren Werten der 2. Versuchsreihe von H. Schulz und damit auch der Gesamtmenge unserer Nachprüfung der H. Schulzschen Untersuchungen; sie wurde aber nicht in gleichbleibenden Dosen gegeben, sondern in allmählich steigernder Dosis, so daß in der 1. Woche durchschnittlich 1 ccm, in der 5. Woche aber 12—15 ccm täglich genommen wurden. Der Schwefelperiode ging eine Vorbeobachtung von 1 bis über 3 Wochen voraus, eine Nachbeobachtung von ähnlicher Länge folgte ihr nach. In diesen Vor- bzw. Nachbeobachtungszeiten wurden keine Scheinmittel gegeben, die Versuchspersonen waren also immer darüber unterrichtet, wann sie Schwefel bekamen und wann nicht.

Die Ausbeute an subjektiven Symptomen war viel spärlicher als wir sonst gewohnt, wohl die Folge davon, daß hier nur wissenschaftlich geübte Personen als Versuchspersonen tätig waren. Die wenigen Symptome, die immerhin aufgetreten sind, müßten um so ernster genommen werden, wenn die Autoren sich im unwissentlichen Versuch kontrolliert hätten; wer ausreichende Erfahrungen im eigenen unwissentlichen Versuch gesammelt hat, verzichtet gern darauf, ohne weiteres subjektive Erscheinungen wie Kopfschmerzen usw. als Folgen homöopathisch kleiner Schwefeldosen anzusehen[26].

Simonson und Richters Kurven zeigen eindeutig die Steigerungen der Ventilationsvolumina unter dem Einfluß der steigenden Schwefelgaben mit Ausnahme des 3. Versuchs (O.R.), der überhaupt aus der Reihe der übrigen herausfällt. In der Arbeit war das Ansteigen der Ventilation noch deutlicher als in der Ruhe.

---

[25] Nähere Angaben sind zu ersehen aus der Arbeit von Simonson u. Richter: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **116**, 272 (1926). — [26] Es ist schwer verständlich, daß Simonson glauben konnte, daß die von ihm beobachteten (höchst spärlichen) Symptome sich „im allgemeinen mit den von H. Schulz beschriebenen decken" würden. Wenn er gar, um seine Ergebnisse erträglicher zu machen, auf Heffters Untersuchungen sich beruft, der bei einem Kaninchen mit 0,5 g Schwefel i. v. eine typische H_2S-Vergiftung erzeugen konnte, so übersieht er dabei, daß Heffter relativ nicht weniger als 200(!)-mal mehr Schwefel seinem Versuchstier gab (noch dazu intravenös) als er und seine Versuchspersonen in langen Wochen eingenommen haben.

Von den 4 Kurven des Stoffwechselverlaufs in Ruhe zeigt nur die des 2. Versuchs (O.R.) eine Kontinuität, so daß nur hier von einem Anstieg gesprochen werden kann; auch diese Kurve aber ist kein tauglicher Beweis[27]. Die Stoffwechselkurven der Versuche 1 und 4 sind während der Schwefelverabreichung alle unruhiger als während der Vor- und Nachbeobachtung, aber von einem gerichteten Anstieg ist in ihnen nichts zu sehen weder in den Arbeitsversuchen noch in der Ruhe. Erst recht ist im 3. Versuch (dem 2. von O. R.) nichts von einem irgendwie überzeugenden Anstieg zu sehen, und es ist nicht begreiflich, wie Simonson und Richter auch aus diesem Versuch herauslesen wollten, daß während der Schwefelperiode die Werte über dem durchschnittlichen Niveau der Vor- und Nachperiode liegen würden. Vergleicht man die Werte der Vor-, Schwefel- und Nachperioden statistisch miteinander, so prägen sich die großen Streuungen und zu kurzen Vergleichsperioden dieser Kurven besonders deutlich aus[28].

Wenn sich während der Schwefelperiode eine Steigerung des Kalorienverbrauchs (gemessen am Grundumsatz pro Minute) aus den Kurven von Simonson und Richter hätte beweisen lassen — was nach unseren obigen Ausführungen nicht der Fall ist — dann wäre die Frage zu beantworten,

---

[27] Nur in diesem Versuch ist der Anstieg des Grundumsatzes ein kontinuierlicher, Kontinuität ist aber die Voraussetzung der rechnerischen Bestimmung der Relationskoeffizienten. Diese ergeben für die Periode der Vorbeobachtung des 3. Versuchs: $R_v = 16{,}5$, $\sigma_v = \pm 23{,}6$, für die Schwefelperiode $R_s = 9{,}7$, $\sigma_s = \pm 3{,}3$, für die Nachbeobachtungsperiode $R_N = -8{,}7$, $\sigma_N = \pm 5{,}5$. Daraus berechnen sich die beiden maßgebenden Differenzen der Relationskoeffizienten als

$$R_{\text{diff I}} = 9{,}7 - 16{,}5 = -6{,}8; \quad 3\,\sigma_{\text{diff}} = \pm 71{,}4;$$
$$R_{\text{diff II}} = 9{,}7 - (-8{,}7) = 18{,}4; \quad 3\,\sigma_{\text{diff}} = \pm 30{,}1.$$

Beim Vergleich der Vorbeobachtung mit der Schwefelperiode ($R_{\text{diff I}}$) ist einerseits die Richtung der Vorbeobachtung auf Grund der rechnerischen Bestimmung noch stärker positiv ansteigend als unter Schwefel, vor allem aber ist die Vorbeobachtung viel zu kurz, um überhaupt brauchbar zu sein, wie sich schon an der Größe des einfachen mittleren Fehlers ($\sigma_v = \pm 23{,}8$) zeigt. Beim Vergleich der Schwefelperiode mit der Nachbeobachtung liegen die Verhältnisse günstiger, aber auch hier sind sowohl der 2fache (20,1) wie der 3fache mittlere Fehler (30,1) größer als $R_{\text{diff II}} = 18{,}4$. Die Lage ist also auch hier zu unsicher, als daß ein statistischer Beweis erbracht werden könnte. [Zur Berechnung des Relationskoeffizienten s. Martini u. B. Schuler: Klin. Wschr. **16**, 110 (1937).]

[28] Bildet man die Mittelwerte der Grundumsätze (in Kal. pro Min. berechnet) in den verschiedenen Perioden der Versuche 1, 2 und 4 von Simonson und Richter, so sind die positiven Differenzen (= Überlegenheiten) der Mittelwerte der Schwefelperioden gegenüber den Mittelwerten der Vor- und Nachbeobachtungszeiten ein Maß der durch den Schwefel bewirkten Umsatzsteigerungen. Diese Überlegenheit ist aber nur dann eine sichere, wenn sie ihrem mittleren Fehler standhält, d. h. dreimal größer wie dieser ist. Der Mittelwert einer Reihe von Grundumsatzwerten sei $Gu = \frac{gu_1 + gu_2 + gu_3 + \cdots gu_n}{n}$; dann ist der dazugehörige mittlere Fehler $\mu = \sqrt{\frac{(Gu - gu_1)^2 + (Gu - gu_2)^2 + \cdots (Gu - gu_n)^2}{n - 1}}$. Der mittlere Fehler der obengenannten Differenz (Gu_{diff}) zweier Grundumsatzmittelwerte wäre

wie diese Steigerung zu erklären sei. Simonson und Richter lehnen eine primäre Ventilationssteigerung als Ursache des vermehrten Kalorienbedarfs ab. Wir halten es im Gegensatz zu ihnen für irrig, eine so enge, gesetzmäßige Proportion zwischen Kalorienverbrauch und vermehrter Atemarbeit vorauszusetzen, daß man im Einzelfall berechnen dürfte, ein wie großer Teil einer Stoffwechselsteigerung einer vermehrten Respiration zugeschrieben werden könnte; bei den großen Streuungen und Fehlerbreiten, mit denen hier offenbar gerechnet werden muß, ist dies erst recht unmöglich.

Hätte es aber bei einer primären Ventilationssteigerung nicht zur Erhöhung des respiratorischen Quotienten kommen müssen, wie wir es beim Einsetzen einer vertieften Atmung zu sehen gewohnt sind? Die respiratorischen Quotienten sind von Simonson und Richter lediglich für 2 Versuche mitgeteilt und zwar für den 3. (O.R.) und den 4. (F.R.). Die Versuche 1 und 2 scheiden für diese Frage also aus[29]. In den Versuchen 3 (O.R.) und 4 (F.R.) war die durchschnittliche Steigerung des R. Q. unter der Schwefelverabreichung nicht nennenswert erhöht bzw. überhaupt fraglich[30]. Aber im Versuch 3 konnte eine Steigerung des R. Q. schon deshalb nicht erwartet werden, da hier auch ebenso der Anstieg der Ventilation nicht der Rede wert bzw. fraglich ist. Im Versuch 4 aber ist die vermehrte Ventilationsgröße nicht einer vertieften Atmung zuzuschreiben, sondern der „bedeutenden Steigerung der (Atem-) Frequenz" (l. c. S. 286); die

$\mu_{\text{diff}} = \sqrt{\mu_v^2 + \mu_5^2}$ (mit v dabei die während der Vorbeobachtung, mit s die während der Schwefelperiode gewonnenen Werte gekennzeichnet). Bei einer solchen Kontrolle ergibt sich für die Versuche von Simonson und Richter:

1. Versuch:	$Gu_{\text{diff I}} = +34$;	$3\,\mu_{\text{diff I}} = \pm 230$,
	$Gu_{\text{diff II}} = +63$;	$3\,\mu_{\text{diff II}} = \pm 228$.
3. Versuch:	$Gu_{\text{diff I}} = +49$;	$3\,\mu_{\text{diff I}} = \pm 131$,
	$Gu_{\text{diff II}} = +56$;	$3\,\mu_{\text{diff II}} = \pm 167$.
4. Versuch:	$Gu_{\text{diff I}} = +24$;	$3\,\mu_{\text{diff I}} = \pm 250$,
	$Gu_{\text{diff II}} = +75$;	$3\,\mu_{\text{diff II}} = \pm 246$.

Die Unterlagen der oben angeführten Mittelwerte und mittleren Fehler sind enthalten in A. Stegemann: Homöopathische Schwefelwirkungen. Diss. Bonn 1939.

Bei genauem Zusehen büßen diese Kurven immer mehr von einem ersten guten Eindruck ein. Wenn man z. B. in Abb. 1 sieht, wie der Kalorienverbrauch in Ruhe sowohl wie in Arbeit innerhalb von 2 Tagen gleich um 2000 Kal. schwankt – in Versuch 3 und 4 kommen ähnliche Schwankungen vor –, dann hat man das Recht zur Skepsis über Bewegungen, die sich über Wochen ganz unregelmäßig hinziehen und im ganzen auch nicht größer sind als eingestreute Tagesschwankungen.

[29] Simonson und Richter teilen in ihrer Arbeit mit (l. c. S. 282), daß die O_2- und CO_2-Werte dieser beiden Versuche und damit auch die Werte des R. Q. verlorengegangen seien. Sie berichten, daß der R. Q. während der „Schwefelvergiftung" nicht „wesentlich verändert" sei; es ist sehr bedauerlich, daß die Art dieser Veränderung nicht näher mitgeteilt wurde.

[30] Im Versuch 3 von 0,72 auf 0,73 und im Versuch 4 von 0,73 auf 0,74 (Durchschnittswerte).

Atemtiefe war im Gegenteil sehr stark, um die Hälfte bis ein Drittel vermindert; das Volumen des einzelnen Atemzuges betrug statt durchschnittlich 500—700 ccm normalerweise während der Schwefelverabreichung durchschnittlich nur 200—500 ccm; nur der hohen Frequenz wegen finden sich in diesem 4. Versuch auch weitaus die höchsten Ventilationssteigerungen.

Eine Ventilationssteigerung durch vertiefte Atmung (Zunahme der einzelnen Atemamplituden) muß notwendigerweise zu einem vermehrten Abrauchen der CO_2 und damit wenigstens vorübergehend zu einer Steigerung des respiratorischen Quotienten führen; ist eine Ventilationssteigerung aber lediglich durch eine Frequenzsteigerung der Atmung zustandegekommen (im Versuch 4 ist obendrein die Atemtiefe verringert), dann sind die schädlichen Räume der Atemwege relativ groß geworden, so braucht trotz der vermehrten Ventilation die Alveolarluftspannung nicht abzusinken und CO_2 vermehrt abgeraucht zu werden, damit entfällt aber auch jeder Grund für eine Steigerung des R. Q.[31].

Wir halten in den Kurven von Simonson und Richter die Ventilationssteigerungen für das Ursprüngliche und Wesentliche. Die Stoffwechselsteigerungen sind problematisch, sie sind so gering und unregelmäßig, daß sie einem exakten Beweisverfahren nicht standhalten; wir halten sie für die Folge der vermehrten Ventilation. Diese aber erscheint uns am ehesten und mit Wahrscheinlichkeit aus einer seelischen Erwartung erklärbar.

Simonson und Richter legten dazu Wert auf die Feststellung, daß ihre Respirationskurven während der Schwefeleinnahme in 3 von 4 Versuchen (Versuch 1, 2 u. 3) unruhig, vor allem in ihrer Höhe ungleichmäßig wurden. Sie belegen die Ungleichmäßigkeiten mit Kurvenausschnitten, die aber infolge ihrer Kürze für sich allein keine Beweise, sondern nur Demonstrationsmaterial sein können. Diese Ungleichmäßigkeiten der Atmung verstärken erst recht unseren Verdacht, daß hier psychische Überlagerungen eine Rolle spielen können.

Es ist noch manches andere gegen die Ergebnisse von Simonson und Richter einzuwenden. Wenn im Versuch 3 die Steigerungen von Ventilation und Grundumsatz undeutlich sind oder ganz fehlen, dann nehmen die Autoren ihre Zuflucht zu „Saisonfaktoren", die im gleichen Atemzug wieder als unwahrscheinlich abgelehnt werden, zu Nachwirkungen früherer Schwefelverabreichungen oder einen eben vorausgegangenen Hochgebirgsaufenthalt. Wenn bei einem (wissentlichen oder unwissentlichen?) Kontroll-

[31] Das Zustandekommen der vermehrten Ventilation in den Versuchen 1 und 2 ist nicht mit gleicher Sicherheit erklärbar. Wenn auch hier die respiratorischen Quotienten nicht mit der Ventilation angestiegen sind, so wird dies wahrscheinlich hier ebenso wie in Versuch 4 in einer vermehrten Atemfrequenz und weniger oder nicht in vermehrter Atemtiefe begründet gewesen sein. Dabei brauchen in diesen beiden ersten Versuchen die Beschleunigung der Atmung lange nicht so groß und deshalb auch nicht so auffällig zu sein wie in Versuch 4. Aus dem Text, den Tabellen und den Abbildungen ist Sicheres darüber nicht zu erfahren.

Tabell

	Durchschnittliche Grundumsatzwerte Kal. in der Minute	Mittler Fehle
I. H. B., cand. med., 23 J., 1,71 m, 62 kg		
Vorbeobachtungsperiode 7. V.—16. V. 1937 ..	Gu_V = 943 Kal.	74
Schwefelperiode 17. V.—20. VI.	Gu_S = 953 „	79
Nachbeobachtungsperiode 21. VI.—18. VII...	Gu_N = 905 „	72
Abb. 1	$Gu_{1\,\text{diff. I}} = 953-943 = 10$	± 108
	$Gu_{2\,\text{diff. II}} = 953-905 = 48$	± 107
II. J. M., Pfleger, 62 J., 1,79 m, 74 kg		
Schwefelperiode 7. VI.—11. VII.....	Gu_S = 1005 Kal.	100
Nachbeobachtungsperiode 12. VII.—18. VIII. 1937.....	Gu_N = 995 „	79
Abb. 2	$Gu_{\text{diff.}} = 1005-995 = 10$	± 127
III. A. B., Pfleger, 42 J., 1,68 m, 65 kg		
Vorbeobachtungsperiode 19. V.—6. VI. 1937	Gu_V = 1115 Kal.	86
Schwefelperiode 7. VI.—11. VII.	Gu_S = 1083 „	67
Nachbeobachtungsperiode 12. VII.—9. VIII. 1937	Gu_N = 1244 „	59
Abb. 3	$Gu_{1\,\text{diff. I}} = 1083-1115 = -32$	± 109
	$Gu_{2\,\text{diff. II}} = 1083-1244 = -161$	± 90
IV. F. M., Pfleger, 49 J., 1,74 m, 60 kg		
Vorbeobachtungsperiode 9. V.—6. VI. 1937..	Gu_V = 1111 Kal.	59
Schwefelperiode 7. VI.—11. VII.	Gu_S = 1081 „	41
Nachbeobachtungsperiode 12. VII.—9. VIII. 1937	Gu_N = 1158 „	63
Abb. 4.	$Gu_{1\,\text{diff. I}} = 1081-1111 = -30$	± 72
	$Gu_{2\,\text{diff. II}} = 1081-1158 = -77$	± 75
V. Selbstvers. A. G., cand. med., 24 J., 1,73 m, 67,5 kg		
Vorbeobachtungsperiode 7. V.—16. V.	Gu_V = 1260 Kal.	100
Schwefelperiode 17. V.—20. VI.	Gu_S = 1249 „	87
Nachbeobachtungsperiode 21. VI.—18. VII. 1937	Gu_N = 1194 „	59
Abb. 5	$Gu_{1\,\text{diff. I}} = 1249-1260 = -11$	± 133
	$Gu_{2\,\text{diff. II}} = 1249-1194 = -55$	± 106

versuch, bei dem Alkohol gegeben wurde, während der Schwefelperiode die Grundumsatzwerte ebenfalls höher liegen als während der Vorbeobachtungszeit — und zwar durchschnittlich um mehr als bei den meisten Schwefelversuchen —, dann beruhigen sie sich damit, daß in der Nachperiode der Grundumsatz ebenso hoch liegt wie während der Schwefelverabreichung und damit, daß die Versuchsperson sich in der Rekonvaleszenz nach längerer Krankheit befand — anstatt daß sie bei so großen Streuungen erst noch weitere Untersuchungen angestellt hätten, ehe sie ihre so merkwürdigen

2.

Durchschnittliche Ventilationsvolumina in der Minute	Mittlerer Fehler	Durchschnittliche Atemfrequenz in der Minute	Mittlerer Fehler
V_V = 6624 ccm	813,1	R_V = 11,4	0,4822
V_S = 4721 „	345,1	R_S = 10,1	1,4666
V_N = 4666 „	508,3	R_N = 7,9	0,6856
$V_{1\,\text{diff. I}}$ = 4721−6624 = − 1903	± 883,2	$R_{1\,\text{diff. I}}$ = 10,1−11,4 = − 1,3	± 1,5438
$V_{2\,\text{diff. II}}$ = 4721 − 4666 = 55	± 614,4	$R_{2\,\text{diff. II}}$ = 10,1−7,9 = 2.2	± 1,6189
V_S = 4873 ccm	705	R_S = 6,73	0,9440
V_N = 4857 „	515	R_N = 6,55	0,6021
$V_{\text{diff.}}$ = 4873−4857 = 16	± 873	$R_{\text{diff.}}$ = 6,55−6,73 = −0,18	± 1,1281
V_V = 6278 ccm	840	R_V = 13,7	1,7757
V_S = 5403 „	569	R_S = 10,8	0,8431
V_N = 5765 „	824,6	R_N = 11,0	0,7383
$V_{1\,\text{diff. I}}$ = 5403 − 6278 = − 875	± 1014,6	$R_{1\,\text{diff. I}}$ = 10,8−13,7 = − 2,9	± 1,9657
$V_{2\,\text{diff. II}}$ = 5403 − 5765 = − 362	± 1001,9	$R_{2\,\text{diff. II}}$ = 10,8−11,0 = − 0,2	± 1,1206
V_V = 6100 ccm	1126,5	R_V = 12,8	1,6133
V_S = 5851 „	608,1	R_S = 11,9	0,6501
V_N = 6205 „	779	R_N = 11,2	1,4331
$V_{1\,\text{diff. I}}$ = 5851−6100 = − 249	± 1280,2	$R_{1\,\text{diff. I}}$ = 11,9−12,8 = − 0,9	± 1,0127
$V_{2\,\text{diff. II}}$ = 5851−6205 = − 354	± 988,4	$R_{2\,\text{diff. II}}$ = 11,9−11,2 = 0,7	± 1,5737
V_V = 5089 ccm	783,6	R_V = 7,55	0,6652
V_S = 4130 „	360,1	R_S = 7,03	1,1538
V_N = 4116 „	312,6	R_N = 6,77	0,7385
$V_{1\,\text{diff. I}}$ = 4130−5089 = − 959	± 272,7	$R_{1\,\text{diff. I}}$ = 7,05−7,55 = − 0,52	± 1,3319
$V_{2\,\text{diff. II}}$ = 4130 − 4116 = 14	± 476,9	$R_{1\,\text{diff. II}}$ = 7,03 − 6,77 = 0,26	± 1,3699

Ergebnisse veröffentlichten. Ihre weitergehenden Schlußfolgerungen auf die Verzögerung der Erholung nach körperlicher Arbeit und auf eine Erregbarkeitssteigerung und Erregung des Atemzentrums unter „chronischer Schwefelvergiftung" sind ebenso bedenklich, wie sie sich auf unbewiesenen und ungleichmäßigen Grundlagen aufbauen.

Unsere Bedenken gegen die Resultate von Simonson und Richter waren groß genug, um uns zu einer Wiederholung ihrer Untersuchungen zu veranlassen. Wir haben dabei nur in der Ruhe untersucht, auf die Arbeitsversuche glaubten wir vorerst verzichten zu können.

Als Versuchspersonen dienten uns 3 erfahrene und ruhige Pfleger der Klinik, 1 Studentin und 1 Student (A. Stegemann) der Medizin. Die Versuchspersonen mit Ausnahme der letzten wußten weder was sie bekamen, noch um welche Fragestellung es sich handelte. Um jede psychische Beeinflussung zu vermeiden, verzichteten wir hier auch auf die Aufzeichnung subjektiver Empfindungen, wir sprachen mit den Versuchspersonen überhaupt nicht über eine solche Möglichkeit, und keine kam auch während der Prüfungszeit auf den Gedanken, uns etwas über irgendwelche Sensationen mitzuteilen. Sie erhielten in der Vorbeobachtungsperiode 30%igen Alkohol, täglich 1 ccm, in der folgenden Beobachtungsperiode Schwefeltinktur (in der gleichen Konzentration, wie wir sie bei der Nachprüfung der Untersuchungen von H. Schulz verwandt hatten) in Dosen von 1—24 ccm, d. h. von 0,00035—0,0084 g wie folgt ansteigend: 17. V. setzten bei allen Versuchspersonen gleichzeitig die Schwefelverabreichungen ein, die Versuchspersonen erhielten: in der 1. Woche täglich 1 ccm Schwefeltinktur (0,00035 g S), in der 2. Woche täglich 3 ccm (0,00105 g S), in der 3. Woche täglich 6 ccm (0,00210 g S), in der 4. Woche täglich 12 ccm (0,0042 g S) und in der 5. Woche täglich 24 ccm (0,0084 g S). In der Nachbeobachtung wurde wieder 30%iger Alkohol gegeben, und dieser von 24 ccm allmählich absteigend bis auf 3 ccm.

Die Versuche erstreckten sich über etwa 11 Wochen, davon fielen jeweils 5 Wochen auf die Schwefelperiode.

Ich benutze bei der folgenden Berechnung die gleichen Bezeichnungen wie oben bei der Besprechung der Simonsonschen Befunde; die kalorischen Umsätze, die Ventilationsvolumina und die Atemfrequenzen sind also in Tabelle 2 durchweg pro Minute angegeben.

Der Verlauf unserer Kurven *a* der Versuche I bis V in Abb. 1 läßt im Gegensatz zu den Befunden von Simonson und Richter nichts von einer Änderung der Verlaufsrichtung unter Schwefel erkennen; es zeigen die Mittelwerte der einzelnen Perioden keine stärkeren durchschnittlichen Grundumsätze während der medikamentösen Schwefeleinwirkung, vielmehr liegen die Mittelwerte der verschiedenen Perioden meist nahe beieinander, und immer zeigt die Größe der mittleren Fehler (Tabelle 2), daß es sich lediglich um unvermeidbare Streuungen handelt, wenn die mittleren Umsätze voneinander abweichen.

Ebenso verhalten sich die Ventilationsvolumina (in der Zeiteinheit). Die Atemkurven der Abb. 1 und Tabelle 2 zeigen, daß während der Schwefelperioden keine Steigerung der Ventilationsvolumina (Kurven *b* der Versuche I bis V in Abb. 1 zustandekommt; teils sind sie während der Schwefelperioden ein wenig größer wie während der Vergleichszeiten, häufiger aber sind sie im Gegenteil wesentlich kleiner, und die mittleren Fehler (Tabelle 2) lassen wieder keinen Zweifel, daß es sich in beiden Fällen nur um Zufälligkeiten, um unvermeidbare Streuungen handelt.

Schließlich zeigen auch unsere Atemkurven nicht die den Schwefelperioden eigenen Unregelmäßigkeiten, noch die Frequenzsteigerun-

gen (Abb. 1, Kurven *c*), von denen Simonson und Richter zu berichten wissen (Tabelle 2). Wohl finden sich auch in unseren Kurven Unregelmäßigkeiten der respiratorischen Amplituden[32]; aber diese finden sich auch in den Vor- und Nachbeobachtungsperioden und sind auch

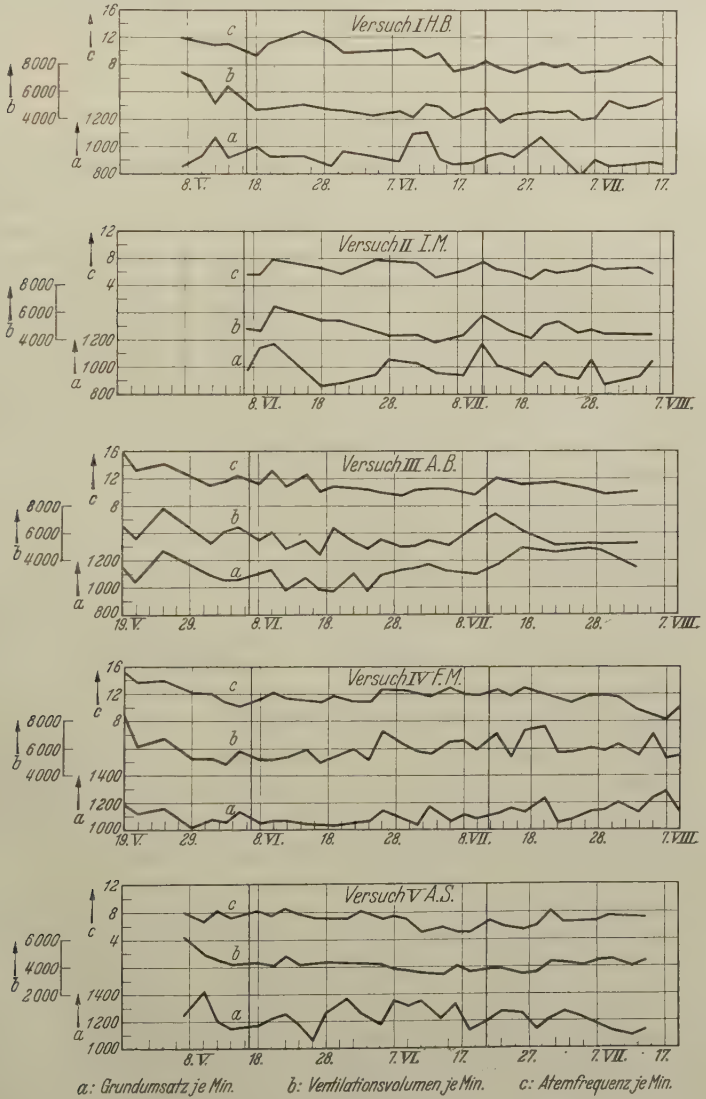


Abb. 1. Kurven des Kalorienverbrauches (*a*), der Ventilationsvolumina (*b*) und der Atemfrequenzen (*c*) der Versuchspersonen I bis V pro Min.

[32] Bei erheblichen Unregelmäßigkeiten der Atmung mußten natürlich hier auch wie sonst die Kurven als unbrauchbar ausgeschaltet werden; solches kam uns sowohl vor als während und nach der Schwefelverabreichung vor, aber auch ohne Bevorzugung einer der 3 Perioden.

bei geübten Versuchspersonen nicht immer ganz zu vermeiden. Gerade bei den Versuchspersonen aber, die schon in der Vorbeobachtungszeit die gleichmäßigsten Kurven atmeten (z. B. im Selbstversuch der V.P. V) war auch während und auf die Dauer der Schwefelverabreichung rein gar nichts von irgendeiner Unregelmäßigkeit der Atmungstiefe zu bemerken und ebensowenig in der Nachbeobachtung.

Zusammenfassung.

1. Nach dem älteren homöopathischen Schrifttum und ebenso nach H. Schulz zu schließen, müßten alle oder fast alle Versuchspersonen auf homöopathisch kleine Schwefeldosen reagieren. Für eine individuelle Über- oder Unterempfindlichkeit gegen Schwefel finden sich weder in dem alten, noch in dem neueren homöopathischen Schrifttum Belege. Wenn danach versucht wird, ein negatives Prüfungsergebnis des Schwefels mit dem Einwand zu beantworten, daß Schwefel nur bei besonders Disponierten seine Wirkung entfalte[33], so steht dies in einem flagranten Widerspruch zu den homöopathischen Autoren und zu H. Schulz, die ganz regelmäßig, fast ausnahmslos bei ihren Versuchspersonen subjektive Symptome in großer Menge bestätigt erhielten.

2. Im alten homöopathischen Schrifttum findet sich keine unwissentliche Arzneimittelprüfung des Schwefels. Auch die subjektive Arzneimittelprüfung des Schwefels von H. Schulz ist tatsächlich nicht unwissentlich und deshalb ebenfalls mit einer ungenügenden und notwendigerweise zu Fehlschlüssen führenden Methodik durchgeführt. Unsere Nachprüfung im unwissentlichen Versuch mit ausreichender Methodik bestätigt die Ergebnisse von H. Schulz und die der alten homöopathischen Prüfer nicht.

3. Wir finden im Gegensatz zu Simonson und Richter während der Verabreichung von Schwefeldosen in der Größe, wie H. Schulz sie zu seinen Versuchen verwandt hat, keine Steigerungen der Ventilation, noch des Kalorienbedarfs (-verbrauchs) im Ruhe-Nüchternversuch, noch finden wir die von jenen beobachteten Frequenzsteigerungen und Unregelmäßigkeiten der Atmungstiefe.

[33] Leeser, S. O.: l. c.

Aus der Pharmakologischen Anstalt der Universität Basel.
(Vorsteher: Prof. Dr. H. Staub.)

Strophanthinwirkung und cholinergischer Mechanismus am Herz*.

Von

J. Kull.

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 8. März 1939.)

Zu den Grundwirkungen der Herzglykoside gehört die Erregung des parasympathischen Systems. Der Hauptangriffspunkt an diesem System ist zweifellos peripher in den Herzmuskel zu verlegen. (Vgl. Zusammenfassung von Straub (1), Weese (2), Lendle (3). Es liegen aber auch Befunde vor, die für eine zentrale Erregung des Vagus sprechen [Cushny (4), Korth, Marx und Weinberg (5)]. Ein dritter Angriffspunkt der Digitalisglykoside, ebenfalls peripher, findet sich offenbar in den pressorezeptorischen Zonen von Arcus Aortae und Sinus caroticus, wo eine Sensibilisierung der druckperzipierenden vagalen Nervenendigungen gefunden wurde [Heymans und Heymans (6), Hering (7), Heymans, Bouckaert und Régniers (8), Staub (9)]. Bestritten wird ein solcher direkter Angriffspunkt an den Pressorezeptoren von Abdon und Nielsen (10).

Vom Standpunkt der Überträgermechanismen von Nervenerregungen auf das Erfolgsorgan, wird von einigen Autoren die parasympathische Erregung im Herzmuskel durch Herzglykoside als eine Sensibilisierung für Azetylcholin angesehen [Gremels (11), Abdon, Hammarskjöld und Nielsen (12)].

Soweit unsere Literaturkenntnis reicht, liegen bis jetzt keine vergleichenden Untersuchungen über den Gehalt des Herzmuskels an Azetylcholin mit und ohne Einwirkung von Herzglykosiden vor. Wir haben uns deshalb die Frage gestellt, ob die parasympathische Erregung des Herzmechanismus durch Herzglykoside nicht nur mit einer Empfindlichkeitssteigerung gegenüber „normalen" Mengen Azetylcholin, sondern mit einer direkten Mehrabgabe oder — Produktion des Vagusstoffes einhergeht. Die Fragestellung wurde durch quantitative Azetylcholinbestimmung im Herzmuskel an isolierten Froschherzen und an Herzen von Katzen, die durch intravenöse Zufuhr von Herzglykosiden vergiftet worden waren, zu lösen versucht.

* Als Dissertation der Med. Fakultät Basel eingereicht und genehmigt auf Antrag von Prof. Dr. H. Staub.

A. Methodik.

1. Versuche am Froschherz.

Es wird das isolierte Froschherz nach der Methode von Straub verwendet, wobei darauf geachtet wird, daß die Nährflüssigkeit immer 1 ccm beträgt.

Die Cholinesterase im Herzmuskel wird durch Vorbehandlung mit Eserin gehemmt. 1 ccm einer Ringerlösung, die Eserin. sulf. in einer Konzentration von 1 : 100000 enthält, wird 10 Minuten im Herzen gelassen und dann ersetzt durch 1 ccm der gleichen Eserinlösung, die pro ccm 0,05 mg Strophanthin Boehringer enthält. Nach erfolgtem Stillstand wird das Herz mit Filtrierpapier getrocknet, die Unterbindungsfäden werden entfernt, und das Herzgewicht mit der Torsionswaage bestimmt. Bei den Kontrollversuchen werden die Herzen in gleicher Weise 10 Minuten mit Eserin vorbehandelt, getrocknet und gewogen. Dann werden die Herzen in je ein kleines Gefäß mit 2 ccm 10%iger Trichloressigsäure gebracht und unter dem Flüssigkeitsspiegel mit einer Schere zerkleinert.

2. Versuche an Katzen.

Zu diesen Versuchen wurden Herzen von Katzen verwendet, welche vorher zur Eichung von Digitalis- und Digitaloid-Glucosiden gedient hatten. Es wurden Strophena, Standard-Ouabain, Cardin, Convallatoxin und Strophanthin untersucht. Als Narkoticum wurde Urethan verwendet, 1,2 g pro kg subcutan. Eine Vorbehandlung mit Eserin war der Eichungsversuche wegen nicht möglich. Unmittelbar nach auskultatorisch festgestelltem Herzstillstand wurde der Thorax eröffnet, das Herz herausgenommen, mit eserinhaltiger Ringerlösung (1 : 100000) gewaschen, um das Blut zu entfernen und mit Filtrierpapier getrocknet. In den Versuchen mit getrennter Bestimmung von Vorhof und Kammer wurde der Vorhof abgetrennt, in ein vorgewogenes Gefäß mit 5 ccm 10%iger Trichloressigsäure gebracht, wieder gewogen und zerkleinert. Die Kammer wurde zunächst gewogen und in Trichloressigsäure, 2 ccm pro g Gewebe, zerschnitten.

Bei den Kontrollversuchen wurden die Tiere in gleicher Weise narkotisiert, der Thorax eröffnet und das Herz herausgeschnitten.

3. Extraktionsmethode.

Die Herzen wurden nach der von Brown und Feldberg (13) für Ganglien beschriebenen Methode extrahiert. Man läßt das fein zerkleinerte Gewebe 1 Stunde lang unter gelegentlichem Umschütteln in der Trichloressigsäure stehen. Dann wird filtriert, der Filterrückstand mit Trichloressigsäure nachgewaschen. Bei den Froschherzen und bei den Vorhöfen der Katzenherzen wird der ganze trichloressigsaure Extrakt weiter verwendet, während bei den ganzen Katzenherzen und bei den Kammern der Extrakt mit Trichloressigsäure auf 20—25 ccm gebracht und davon 10 ccm Portionen weiter verarbeitet wurden. Die Trichloressigsäure wird durch Ausschütteln mit Äther entfernt. Mit n HCl wird die Reaktion auf p_H 4 gebracht. Zur p_H-Bestimmung wird der Universalindikator verwendet. Dann wird im Vakuum bei einer Temperatur unter 40° zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird mit absolutem Alkohol aufgenommen, filtriert, mit HCl wieder auf p_H 4 gebracht und nochmals eingedampft. Es muß darauf geachtet werden, daß der Rückstand vollkommen trocken ist, da Spuren von Alkohol den Muskel schädigen. Zur Bestimmung des Azetylcholingehalts wird der Rückstand in wenig Eserin-Ringer gelöst, mit n NaOH neutralisiert und entsprechend dem Badevolumen des Blutegels weiter verdünnt.

4. Azetylcholinbestimmung.

Zur quantitativen Bestimmung des Azetylcholins wird der sensibilisierte Blutegelrückenmuskel nach Führer (14) und Minz (15) verwendet. Er reagiert, wie von Minz (15) nachgewiesen wurde, spezifisch auf Azetylcholin.

Präparation. Der Blutegel wird auf ein Stück Filtrierpapier gebracht. Der vordere Saugnapf wird mit den ersten 3—4 Segmenten abgeschnitten. Dann wird der Egel halbiert. Nur die vordere Hälfte wird verwendet, da sie nach den Untersuchungen von Feldberg und Krayer (16) 2—4mal empfindlicher ist als die hintere. Durch die eine Öffnung wird eine kleine Schere eingeführt und beiderseits der gelben Seitenkante entlang aufgeschnitten. Die Ventralseite wird entfernt, die noch am Dorsalteil anhaftenden, weißlichen Reste der Eingeweide wegpräpariert. An beiden Enden werden Aufhängefäden angebracht. Dann wird der Muskel in Ringerlösung aufgehängt und mehrmals ausgewaschen. Es wird die von Ammon (17) für den Blutegel angegebene Ringerlösung verwendet. Sie enthält: 0,65% NaCl, 0,042% KCl, 0,024% $CaCl_2$, 0,05% $NaHCO_3$ und 0,5 mg% $MgCl_2$. Abb. 1 zeigt

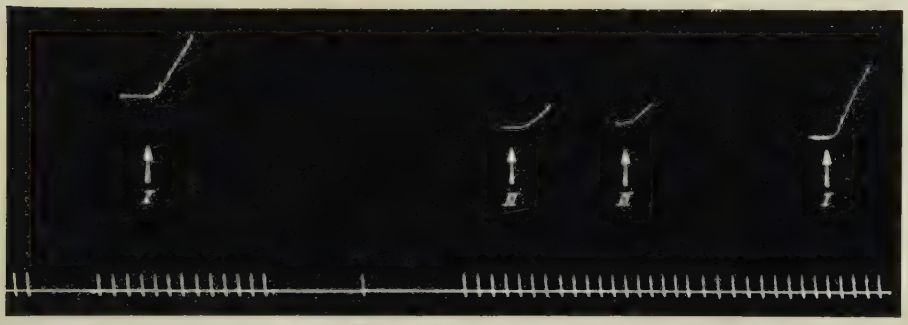


Abb. 1. Einfluß verschiedener Ringerlösung auf die Azetylcholinkontraktion am sensibilisierten Blutegelmuskel. Bei I Ringerlösung nach Ammon, bei II 1,35fach verdünnte Lockesche Lösung. Es wird immer 0,3 γ Azetylcholin zugegeben. Badevolumen = 30 ccm. Zeitmarkierung = 1 Min.

den Vergleich dieser Ringerlösung mit einer 1,35fach verdünnten Lockeschen Lösung. Bei Verwendung der Ammonschen Ringerlösung wird eine größere Hubhöhe erreicht.

Das Badevolumen beträgt 25—30 ccm; die Temperatur ist Zimmertemperatur, sie darf nicht unter 18° sinken, da der Muskel in der Kälte schlecht erschlafft [Gaddum und Dale (18)]. Durch das Bad wird Sauerstoff durchgeperlt. Die Belastung beträgt je nach der Größe des Muskels 2—3 g. Die Hebelvergrößerung der Kontraktionen ist etwa 5fach.

Der Muskel wird so lange in Ringerlösung gehalten, bis er vollständig erschlafft. Es dauert im allgemeinen 3 Stunden (private Mitteilung von Feldberg). Läßt man den Muskel nur 15—30 Minuten, wie Minz (15) und Handovsky und Farber (19), oder $^1/_2$—1 Stunde, wie es Vartiainen (20) angibt, so erhält man keine konstanten Werte. Erst wenn der Muskel erschlafft ist, wird er mit Eserin. sulf. sensibilisiert. In den Monaten Mai bis November genügte eine Eserinkonzentration von $1:2 \cdot 10^5$, von November bis Februar mußte eine Konzentration von $1:10^5$ verwendet werden. Feldberg und Krayer (16) fanden ähnliche Unterschiede: sie sensibilisierten im Dezember und Januar mit $1:2 \cdot 10^5$, während den übrigen Monaten mit $1:5 \cdot 10^5$ und $1:2 \cdot 10^6$. Die Sensibilisierung mit Eserin dauert 15—20 Minuten.

Bei jedem Blutegelpräparat wird zunächst die Reaktion auf eine bekannte Menge Azetylcholin bestimmt. Diese Kontrolle mit bekannten Azetylcholinmengen wird während des Versuches hier und da wiederholt, um Ermüdung des Blutegelmuskels rechtzeitig festzustellen.

Zum Auswaschen des Blutegelmuskels muß eserinfreie Ringerlösung verwendet werden; bei mittleren Konzentrationen Azetylcholin dauert die Zeit bis zur Er-

schlaffung 15—20 Minuten. Durch Dehnung des Muskels kann, wie Minz (15) angibt, die Erschlaffung beschleunigt werden. Ist der Muskel vollständig erschlafft, so wird er wieder für 5 Minuten mit eserinhaltiger Ringerlösung sensibilisiert. Die Azetylcholinverdünnungen werden mit eserinhaltiger Ringerlösung hergestellt. Es wird Azetylcholin in Ampullen der Firma Hoffmann-La Roche verwendet.

B. Versuchsergebnisse.

1. Versuche am isolierten Froschherzen.

Nach Strophanthinvorbehandlung ließ sich bei allen Versuchen am Froschherz eine Vermehrung des Azetylcholingehaltes im Herzmuskel feststellen. Die Resultate sind in Tabelle 1 bis 3 zusammengestellt. Da aus den Versuchen eindeutig hervorgeht, daß

Tabelle 1a. Strophanthinversuche (0,05 mg) an Esculenten im Juni und Juli.

Herzgewicht mg	A. Ch. γ/Herz	A. Ch. γ/g Herz	Zeit bis Herzstillstand
260,5	1,5	5,75	5′
290,5	1,5	5,16	8′ 20″
321,5	1,2	3,73	5′
276,5	1,35	4,88	8′
249	1,05	4,21	7′
254	1,05	4,13	5′ 20″
205	0,9	4,39	—
163	0,9	5,52	4′ 50″
152	0,5	3,29	6′ 40″
129	0,5	3,88	5′ 50″
Mittelwert:	**1,14 ± 0,127**	**4,49**	**7′**

Tabelle 1b. Kontrollversuche an Esculenten im Juni und Juli.

Herzgewicht mg	A. Ch. γ/Herz	A. Ch. γ/g Herz
289	0,15	0,52
266,5	0,15	0,56
230,5	0,24	1,03
102	0,15	1,47
95	0,12	1,26
108	0,25	2,31
Mittelwert:	**0,18 ± 0,022**	**1,19**

Signifikante Differenz: 8,74.

der Azetylcholingehalt weitgehend unabhängig von der Herzgröße ist, wurden zur Berechnung der Zunahme nach Strophanthinbehandlung, sowie zur Bestimmung der mittleren Abweichung und der signifikanten Differenz [s. Burn (21), Biologische Auswertungsmethoden, S. 20—23] die Werte γ pro Gesamtherz verwendet. Bei den Versuchen, die mit Esculenten im Sommer (Tabelle 1) ausgeführt wurden, findet sich bei den Kontrollherzen ein Azetylcholingehalt von $0{,}18 \pm 0{,}022\,\gamma$ pro Gesamtherz (1,19 γ pro g Herz), bei den Strophanthinherzen $1{,}14 \pm 0{,}127\,\gamma$ pro Herz (4,49 γ pro g Herz); ein Vergleich der beiden Mittelwerte ergibt eine Azetylcholinzunahme um das 6,3fache. Werden die Untersuchungen bei der gleichen Froschart im

Tabelle 2a. Strophanthinversuche (0,05 mg) an Esculenten im Winter.

Herzgewicht mg	A. Ch. γ/Herz	A. Ch. γ/g Herz	Zeit bis Herzstillstand
281,5	0,5	1,77	2′ 25″
221,5	0,48	2,17	3′ 50″
319	0,6	1,9	5′ 10″
146	0,5	3,40	4′ 40″
138	0,7	5,07	3′
215	0,5	2,32	3′ 15″
197	0,6	3,04	2′ 05″
178	0,5	2,81	7′
Mittelwert:	**0,55 ± 0,028**	**2,81**	**3′ 51″**

Winter ausgeführt (Tabelle 2), so beträgt die Zunahme bei einem Azetylcholingehalt der Kontrollherzen von 0,23 ± 0,012 γ pro Herz (1,28 γ pro g Herz) und der Strophanthinherzen von 0,55 ± 0,025 γ pro Herz (2,81 γ pro g Herz) das 2,4fache. Die im Sommer untersuchten Temporarien zeigen mit 0,057 ± 0,002 γ pro Herz (0,31 γ pro g Herz) bei den Kontrollversuchen und 0,16 ± 0,050 γ pro Herz (0,74 γ pro g Herz) bei den Strophanthinversuchen einen wesentlich geringeren Azetylcholingehalt (Tabelle 3); hier ergibt sich eine Zunahme um das 2,8fache. [Nach den Untersuchungen von Vartiainen (20) beträgt der Azetylcholingehalt von Froschherzen 3,1—8,7 γ pro g, nach denjenigen von Plattner und Tsudzimura (22) 0,4 bis 0,6 γ pro g.]

Tabelle 2b. Kontrollversuche an Esculenten im Winter.

Herzgewicht mg	A. Ch. γ/Herz	A. Ch. γ/g Herz
159	0,25	1,57
159	0,20	1,26
207	0.30	1,40
294	0,20	0,60
146	0,25	1,71
286	0,25	0,87
126	0,20	1,58
189	0,22	1,21
Mittelwert:	**0,23 ± 0,012**	**1,28**

Signifikante Differenz: 10,24

Tabelle 3a. Strophanthinversuche (0,05 mg) an Temporarien im Juni.

Herzgewicht mg	A. Ch. γ/Herz	A. Ch. γ/g Herz	Zeit bis Herzstillstand
250	0,09	0,36	4′ 50″
236	0,09	0,38	6′
212	0,30	1,41	4′
184	0,15	0,82	—
Mittelwert:	**0,16 ± 0,050**	**0,74**	**4′ 57″**

Tabelle 3b. Kontrollversuche an Temporarien im Juni.

Herzgewicht	A. Ch. γ/Herz	A. Ch. γ/g Herz
173	0,06	0,35
209	0,06	0,29
163	0,06	0,37
188	0,045	0,24
243	0,06	0,25
164	0,06	0,36
Mittelwert:	**0,057 ± 0,002**	**0,31**

Signifikante Differenz: 2,00.

2. Versuche an Katzen.

Zu diesen Versuchen wurden Herzen von Katzen verwendet, welche vorher zur Eichung von Digitalis- und Digitaloid-Glukosiden gedient hatten. Eine Vermehrung des Azetylcholingehaltes des Herzmuskels gegenüber unbehandelten Kontrollen ließ sich an den Katzenherzen nicht feststellen. In Tabelle 4 sind die Mittelwerte der einzelnen Gruppen zu-

Tabelle 4. Acetylcholingehalt von Katzenherzen.

Glykosid	Zahl der Versuchstiere	A. Ch. γ/Kammer	γ/g Kammer	γ/Vorhof	γ/g Vorhof	γ/Herz	γ/g Herz
Strophena	5					2,03	0,25
Standard-Ouabain .	3					3,00	0,33
Cardin.....	20	1,85	0,21	0,76	0,48	2,52	0,28
Convallatoxin	9	1,42	0,25	0,54	0,42	2,06	0,28
Strophanthin.....	10	1,53	0,23	0,69	0,58	2,23	0,28
Mittelwerte:	47	1,60	0,23	0,66	0,50	2,35	0,28
Kontrollkatzen	8	1,81	0,22	0,76	0,46	2,64	0,27

sammengestellt. Daß digitalisierte und unbehandelte Herzen gleichen Azetylcholingehalt aufweisen, ist aller Wahrscheinlichkeit nach auf die Esterasewirkung in der Zeit von Herzstillstand bis zur Verarbeitung des Herzens zurückzuführen. Der bestimmte Azetylcholingehalt entspricht offenbar dem für den normalen Tonus der Herzmuskulatur notwendigen Gehalt. In Übereinstimmung mit den Versuchen von Engelhart (23) an Kaninchen und Chang und Gaddum (24) an Hunden, enthält auch bei Katzen die Herzkammer nur etwa halb soviel Azetylcholin pro Gewichtseinheit, wie der Vorhof. Auch in den nervenreichen Vorhöfen zeigt sich keine Vermehrung von Acetylcholin nach Vorbehandlung mit einem Herzglykosid.

3. Kontrollversuche am Blutegel.

Strophanthin allein erzeugt am Blutegelrückenmuskel keine Kontraktion. Auch gleichzeitig mit Azetylcholin gegeben bewirkt Strophanthin keine Änderung der Hubhöhe (Abb. 2).

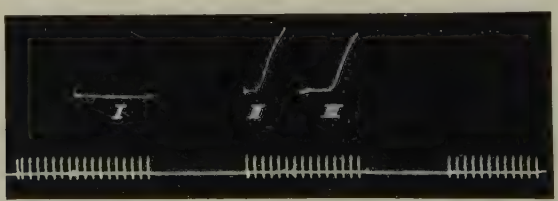


Abb. 2. Kontrollversuch mit Strophanthin am Blutegel-Rückenmuskel. Bei I Zugabe von 0,05 mg Strophanthin zum sensibilisierten Muskel. Bei II Zugabe 0,5 γ Azetylcholin und bei III 0,5 γ Azetylcholin gleichzeitig mit 0,05 mg Strophanthin. Badevolumen 30 ccm. Zeitmarkierung: 1 Min.

4. Versuche über Beeinflussung der Cholinesterasewirkung durch Herzglykoside.

a) Biologische Methoden in vitro und vivo.

Um zu unterscheiden, ob die Azetylcholinvermehrung nach Strophanthin durch Verlangsamung der Zerstörung infolge Hemmung der Cholin-

Abb. 3. Versuch über Beeinflussung der Cholinesterase durch Strophanthin. Froschrektus, sensibilisiert mit Eserin. I Ansätze mit Strophanthin. II Ansätze mit Ringerlösung = Kontrollen. Zeitmarkierung: 1 Min.

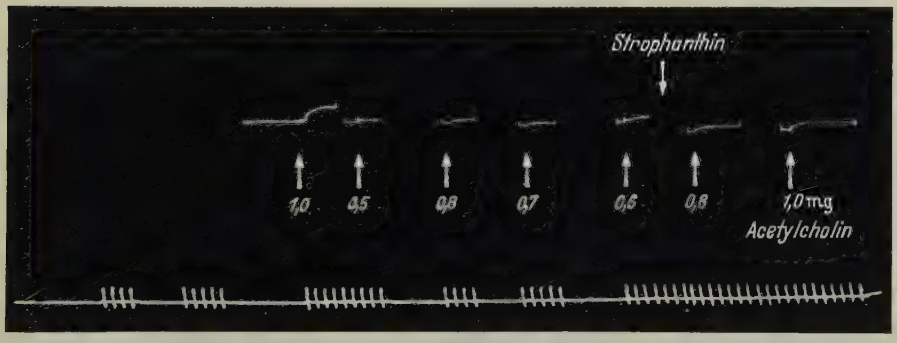


Abb. 4. Versuch über Sensibilisierung des Blutegelrückenmuskels mit Strophanthin. Bei ▼ 20 Min. Strophanthin $1:10^6$. Badevolumen 30 ccm. Zeitmarkierung: 1 Min.

esterase bedingt ist, wurde die Beeinflussung der Spaltungsgeschwindigkeit im Blutserum nach Zusatz von Strophanthin untersucht. Abb. 3 zeigt einen solchen Versuch mit Pferdeserum. 1 ccm Serum wird mit 0,1 ccm (0,05 mg) Strophanthin 15 Minuten bei Zimmertemperatur stehengelassen,

dann werden 20 γ Azetylcholin hinzugefügt und die Spaltung nach 30 Sekunden mit 0,2 ccm einer Eserinlösung 1 : 1000 unterbrochen. In den Kontrollversuchen wurde, um gleiche Verdünnung des Blutserums zu erhalten, an Stelle von Strophanthin 0,1 ccm Ringerlösung hinzugegeben. Wie aus den Kurven zu sehen ist, erfolgt die Spaltung bei beiden Ansätzen gleich rasch. Es ist durch Strophanthin keine Hemmung der Cholinesterase eingetreten.

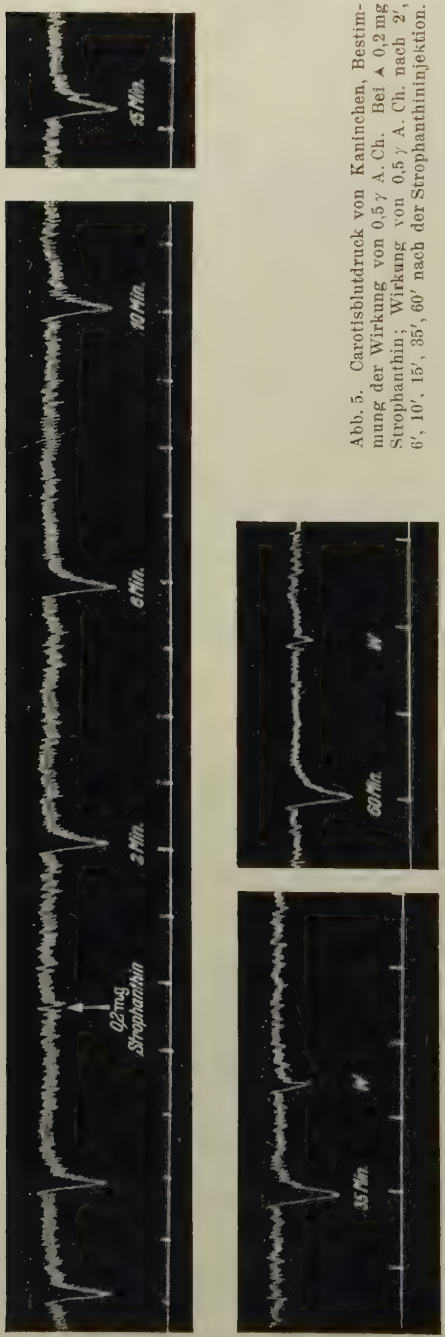


Abb. 5. Carotisblutdruck von Kaninchen. Bestimmung der Wirkung von 0,5 γ A. Ch. Bei ▲ 0,2 mg Strophanthin; Wirkung von 0,5 γ A. Ch. nach 2', 6', 10', 15', 35', 60' nach der Strophanthininjektion.

Weiter wurde untersucht, ob sich, ähnlich wie mit Eserin, die Empfindlichkeit des Blutegels für Azetylcholin mit Strophanthin steigern läßt. Der Muskel wurde in Ringerlösung aufgehängt und nach 3 Stunden, nachdem er vollständig erschlafft ist, die kleinste wirksame Dosis Azetylcholin bestimmt. Wie aus der Kurve (Abb. 4) zu ersehen ist, bewirken 0,8 mg eben noch eine Kontraktion. Dann wird die Badeflüssigkeit durch eine Ringerlösung ersetzt, die einen Gehalt an Strophanthin von $1 : 10^6$ enthält. Nach 20 Minuten wurde die gleiche Menge Azetylcholin geprüft. Die Empfindlichkeit des Muskels änderte sich nicht.

Bei Kaninchen in Urethannarkose wird der Blutdruck registriert und zunächst die Größe der blutdrucksenkenden Wirkung einer kleinen Menge Azetylcholin bestimmt. Nach einmaliger intravenöser Injektion von 0,2 mg Strophanthin wird in bestimmten Zeitabständen wieder die gleiche Menge Azetylcholin injiziert. Wie in Abb. 5 zu sehen ist, tritt keine Änderung weder in der Stärke

noch Dauer der blutdrucksenkenden Wirkung von Azetylcholin nach Strophanthin auf.

b) Chemische Methode.

Die Cholinesterasebestimmung wurde mit der Warburgschen Apparatur nach den Angaben von Ammon und Voss (25) ausgeführt. Durch die bei der Spaltung von Azetylcholin freiwerdende Essigsäure wird aus der bicarbonathaltigen Ringerlösung eine entsprechende Menge CO_2 frei, die manometrisch bestimmt wird. Als fermenthaltiges Substrat wurde defibriniertes Menschenblut in einer Endverdünnung von 0,5% bzw. 1,125% verwendet. Die Endkonzentration des Azetylcholinchlorids war 0,375%. Zur Herstellung der Verdünnungen wurde frisch bereitete Ringerlösung [R_{30} nach Ammon und Voss (25)] von folgender Zusammensetzung verwendet [siehe Navratil (26)]: 100 ccm 0,9%ige NaCl + 2 ccm 1,2%ige KCl + 2 ccm 1,76%ige $CaCl_2$ (krist.) + 30 ccm 1,26%ige $NaHCO_3$. Die Tabelle 5 zeigt die Resultate eines solchen Versuches:

Tabelle 5. Cholinesterasebestimmung.
Die Zahlen bedeuten cmm CO_2. Die Blutkonzentration beträgt 0,5%.

Strophanthinzusatz in mg%	1/2 Stunde	1 Stunde	2 Stunden	3 1/4 Stunden
10	37,1	71,1	120,3	194,4
1	35,3	70,9	125,9	200,2
0,1	33,8	66,8	122,4	197,4
0,01	26,6	62,6	120,7	203,2
Ohne Zusatz	28,6	68,3	124,3	209,0

Auch bei den übrigen Versuchen dieser Art trat, in Übereinstimmung mit den Untersuchungen von Abdon und Nielsen (27), durch Strophanthin keine Hemmung der Cholinesterase auf.

Diskussion der Ergebnisse.

In seiner Monographie über „Gefäßerweiternde Stoffe" teilt Gaddum (18) die cholinergisch wirksamen Pharmaca in drei Gruppen ein:

a) enthält Pharmaca, die in gleicher Weise wie die spezifischen Überträger wirken.
b) Pharmaca, die die Nervenwirkung verstärken.
c) Pharmaca, die dadurch wirken, daß sie den spezifischen Überträger der Nervenwirkung frei machen.

Zu der Gruppe a) gehören Azetylcholin, Muskarin, Pilokarpin und Arekolin. Diese Stoffe bewirken keine Vermehrung des Azetylcholingehaltes. Ihre Wirkung ist derjenigen des Vagusstoffes ähnlich.

Zur Gruppe b) gehören Eserin, Prostigmin und nach neueren Untersuchungen Ergotamin [Loewi und Navratil (28)], Morphin und Apomorphin [Bernheim (29)]. Diese Stoffe bewirken eine Erhöhung des Azetylcholingehaltes nicht auf dem Wege einer vermehrten Neubildung, sondern durch Hemmung der Esterase. Unsere Versuche zeigen in Über-

einstimmung mit den Versuchen von Abdon und Nielsen (27), daß Strophanthin die Wirkung der Cholinesterase nicht beeinflußt.

Nach unseren Untersuchungen muß Strophanthin offenbar in die Gruppe c) eingereiht werden: Das Digitaloid fördert auf irgendeine, noch unbekannte Weise die Bildung von Azetylcholin; das gilt aber nach unseren Versuchen bis jetzt nur für das Froschherz. Am Warmblüterherz ist ein gleicher Effekt nicht nachzuweisen; methodische Mängel können für die letzteren negativen Resultate eine Rolle spielen.

Zusammenfassung.

1. Am isolierten Froschherzen verursacht Strophanthin eine Vermehrung des Azetylcholingehaltes im Herzmuskel. (Esculentenherzen enthalten mehr Azetylcholin als Temporarien.)

2. Der absolute Azetylcholingehalt pro Herz ist weitgehend unabhängig vom Herzgewicht.

3. An Katzenherzen ließ sich eine Vermehrung von Azetylcholin unter Herzglykosidwirkung nicht nachweisen.

4. Katzenherzen haben im Vorhof mehr Azetylcholin als in der Kammer.

5. Durch Strophanthin wird die Cholinesterase nicht gehemmt.

Die Arbeit ist auf Anregung und unter Leitung von Herrn Prof. Staub ausgeführt.

Literatur.

1) Straub: Heffters Handb. d. exper. Pharm. II, 2, S. 1419 ff. (1924). — 2) Weese: Digitalis. Leipzig, Thieme, 1936. - 3) Lendle: Heffters Handb. d. exper. Pharm., Erg.-Bd. I (1935). — 4) Cushny: Digitalis, London 1925 [zitiert nach Lendle: Heffters Handb. d. exper. Pharm., Erg.-Bd. I (1935)]. — 5) Korth, Marx u. Weinberg: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **185**, 42 (1937). — 6) Heymans u. Heymans: J. Pharmacol. (Am.) **29**, 203 (1926). — 7) Hering: Verh. dtsch. Ges. inn. Med. **1930**, S. 192—197. — 8) Heymans, Bouckaert u. Régniers: Arch. internat. Pharmacodynam. **44**, 31 (1932); C. r. Soc. Biol. **110**, 572 (1932). — 9) Staub: Schweiz. med. Wschr. **20**, 447 (1935). — 10) Abdon u. Nielsen: Skand. Arch. Physiol. **78**, 1 (1938). — 11) Gremels: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **169**, 689 (1933); **179**, 360 (1935); **186**, 625 (1937). — 12) Abdon, Hammarskjöld u. Nielsen: Skand. Arch. Physiol. (D.) **78**, 8 (1938). — 13) Brown u. Feldberg: J. Physiol. (Brit.) **86**, 290 (1936). — 14) Führer: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **82**, 81 (1918). — 15) Minz: Ebenda **168**, 292 (1932). — 16) Feldberg u. Krayer: Ebenda **172**, 170 (1933). — 17) Ammon u. Kwiatowski: Pflügers Arch. **234**, 269 (1934). — 18) Gaddum u. Dale: Gefäßerweiternde Stoffe der Gewebe. Leipzig, Thieme, 1936. — 19) Handovsky u. Farber: Arch. internat. Pharmacodynam. **54**, 11 (1937). — 20) Vartiainen: J. Physiol. (Brit.) **82**, 282 (1934). — 21) Burn: Biologische Auswertungsmethoden. Berlin, Jul. Springer, 1937. — 22) Plattner u. Tsudzimura: Pflügers Arch. **236**, 175 (1935). — 23) Engelhart: Ebenda **225**, 721 (1930). — 24) Chang u. Gaddum: J. Physiol. (Brit.) **79**, 255 (1933). — 25) Ammon u. Voß: Pflügers Arch. **235**, 393 (1935). — 26) Navratil: Klin. Wschr. **1**, 64 (1937). — 27) Abdon u. Nielsen: Skand. Arch. Physiol. (D.) **78**, 13 (1938). — 28) Loewi u. Navratil: Pflügers Arch. **214**, 189 (1926). — 29) Bernheim: J. Pharmacol. (Am.) **57**, 427 (1936).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Pécs.

Über die Bedeutung außerpankreatischer Faktoren für die diabetische Stoffwechselstörung.

Von

Josef Sós.

Assistent am Institut.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 4. März 1939.)

Die Tatsache, daß die Entfernung der Bauchspeicheldrüse einen dem menschlichen Diabetes ähnlichen Zustand hervorruft (v. Mering und Minkovsky[1]) führte zu der — durch die Erfolge der Insulintherapie bestärkten — Auffassung über die Identität des menschlichen und des experimentellen Pankreasdiabetes. Gegen diese Auffassung sprach aber, daß während der menschliche Diabetes bezüglich der Intensität der Stoffwechselstörung eine ununterbrochene Reihe zeigt — was nach der Insulinmangeltheorie auf verschiedene Grade der gestörten Insulinproduktion zurückgeführt wird —, entsteht der Pankreasdiabetes fast nach dem „Alles-oder-Nichts-Gesetz", indem, wie schon Minkovsky zeigte, die Belassung von $^1/_{10}$ Pankreasgewebe genügt, um die diabetische Stoffwechselstörung zu hindern. Dies spricht dafür, daß in einem sonst gesunden Organismus minimale Insulinmengen genügen, um den normalen Ablauf des KH.-Stoffwechsels zu sichern, was auch gut mit der Feststellung Holms[2] im Einklang steht, nach welcher ein Hund von 10 kg nach Totalexstirpation des Pankreas bei einer Dauerinfusion von Insulin im Laufe von 24 Stunden für die Erreichung von Zuckerfreiheit nicht mehr als 1,6 Einheiten benötigte.

Ihre schwerste Wunde erhielt aber die Mangeltheorie durch die von L. Pollak[3] sowie von Baker, Dickens und Dodds[4] nachgewiesene Tatsache, nach welcher das Pankreas schwer diabetischer Leichen bedeutende Mengen Insulin enthält, was in krassem Widerspruch zu der schon erwähnten Tatsache steht, nach welcher $^1/_{10}$ des Hundepankreas genügt, um den Diabetes zu verhindern.

All dies ließ schon lange vermuten, daß der menschliche Diabetes nicht durch eine mangelhafte Insulinproduktion, sondern dadurch zustande kommt, daß im diabetischen Organismus die normale Insulin-

---

[1] v. Mering, J., u. O. Minkowski: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **26**, 371 (1890). — [2] Holm, K.: Ebenda **121**, 368 (1927). — [3] Pollak, L.: Ebenda **116**, 15 (1926). — [4] Baker, Dickens u. Dodds: British J. exper. Path. **5**, 327 (1924).

menge nicht genügt, um den Bedarf des KH.-Umsatzes zu decken. Dieser höhere Insulinbedarf des Diabetikers könnte durch zwei Ursachen bedingt sein: Einmal dadurch, daß das Insulin in stärkerem Maße zerstört wird. Dafür sprechen die interessanten Befunde von Vigneaud[5] und seinen Mitarbeitern, denen es gelungen ist, mit einfachen im Blut und Geweben vorkommenden Sulfhydrilverbindungen (Cystein, Thiomilchsäure, Glutathion) das Insulin zu inaktivieren, sowie die Befunde von Bürger[6], nach welchen das Serum von Diabetikern Insulin viel rascher zerstören soll als Normalserum.

Weiterhin wäre es möglich, daß im diabetischen Organismus nicht die Produktion, sondern die Wirksamkeit des Insulins eine verminderte ist, so daß eine größere Insulinmenge notwendig ist, um die Ansprüche des normalen KH.-Haushalts zu befriedigen.

Für die Erklärung eines relativen Insulinmangels kommen in erster Reihe jene Untersuchungen in Betracht, welche den Zusammenhang der Stoffwechsellage und der Insulinempfindlichkeit aufdeckten, so die Arbeiten von Page[7], dann von Paneau und Simonet[8], sowie von Abderhalden und Wertheimer[9], in welchen gezeigt wurde, wie alkalotisch wirksame Nahrung und Alkalien fördernd, Säuren dagegen hemmend die Wirksamkeit des Insulins beeinflussen. Auch der Schilddrüsentätigkeit wird die Fähigkeit zugesprochen, die Insulinwirksamkeit zu mindern (Rosenberg[10], Baranoff[11]), und hier müssen auch jene Hormone erwähnt werden, welche die Insulinwirkung dadurch mindern, daß sie dem Insulin antagonistisch wirken, so das Adrenalin, gewisse Wirkstoffe des Hypophysenhinterlappens (Burn[12], Lucke[13]), sowie das von Houssay[14] entdeckte diabetogene Hormon des HVL.

Alle diese Beobachtungen, insbesondere aber die grundlegenden Untersuchungen von Houssay über die Bedeutung der Hypophyse, lenkten die Aufmerksamkeit auf die extrapankreatischen Faktoren des KH.-Stoffwechsels, welche offenbar auch bei der Entstehung des menschlichen Diabetes eine weit größere Rolle spielen dürften, als es früher angenommen wurde. Dafür spricht besonders die von Falta[15] beobachtete individuelle Schwankung des Glucoseäquivalenten, welche höchstwahrscheinlich durch außerinsuläre Faktoren bedingt ist.

---

[5] Vigneaud: J. biol. Chem. (Am.) **94**, 233 (1931). — [6] Bürger, M.: Klin. Wschr. **1937**, S. 361. — [7] Page: Amer. J. Physiol. **66**, 1 (1923). — [8] Paneau u. Simonet: C. r. Soc. Biol. 1925, II., S. 1292. — [9] Abderhalden, E., u. E. Wertheimer: Pflügers Arch. **203**, 439 (1923); **205**, 547 (1924); **206**. 451 (1925); **207**, 222 (1925); **213**, 328 (1926). — [10] Rosenberg, M.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **93**, 208 (1922); Klin. Wschr. **1927**, S. 631. — [11] Baranoff, W. G.: Z. exper. Med. **59**, 222 (1927). — [12] Burn, J. H.: J. Physiol. (Brit). **57**, 318 (1923). — [13] Lucke, H.: Z. exper. Med. **100**, 73 (1936). — [14] Houssay, B. A.: C. r. Soc. Biol. **111**, 479 (1932); Klin. Wschr. **12**, 773 (1933); C. r. Soc. Biol. **120**, 737 (1935); Houssay u. Foglia: Ebenda **123**, 824 (1936). — [15] Falta, W., u. R. Boller: Klin. Wschr. **1931**, S. 438; W. Falta: Ebenda **1935**, S. 697.

Wie bedeutend derartige außerinsuläre Bedingungen den KH.-Stoffwechsel beeinflussen können, zeigte eine im Jahre 1929 von Mansfeld[16] kurz mitgeteilte Beobachtung. Es handelte sich um einen pankreaslosen Hund, an welchem geprüft wurde, wie hohe Insulindosen bei qualitativ und quantitativ völlig gleicher Nahrung notwendig sind, um den Harn zuckerfrei zu bekommen. Das damals sehr überraschende und schwerverständliche Ergebnis dieses Versuchs war, daß die Insulinmenge, welche für das Erreichen von Zuckerfreiheit notwendig war, sehr große Schwankungen zeigte, und zwar von 5 bis 40 I.E., also Mengenunterschiede um das Achtfache. Mit Rücksicht darauf, daß hier, wie auch die Obduktion feststellte, kein Inselsystem mehr vorhanden war, konnten die riesigen Schwankungen des Insulinbedarfs nur von einem anderen Organ bedingt gewesen sein. In Anbetracht der seither gesammelten Erfahrungen über die Bedeutung außerpankreatischer Einflüsse schien es wichtig, diese ältere Beobachtung durch neuere zu ergänzen, um die Schwankungen des Insulinbedarfs und ihre Bedingungen nach Pankreasentfernung näher kennenzulernen. So hatte ich auf Anregung von Herrn Prof. Mansfeld die Schwankungen des Insulinbedarfs nach Pankreasentfernung, sowie ihre Bedingungen einer Untersuchung unterworfen, worüber im folgenden berichtet werden soll.

Versuche.

Versuch 1.

Unseren eigenen Versuchen möchte ich in graphischer Darstellung (s. Abb. 1) die Daten des in der Einleitung erwähnten Mansfeldschen Versuchs vorausschicken.

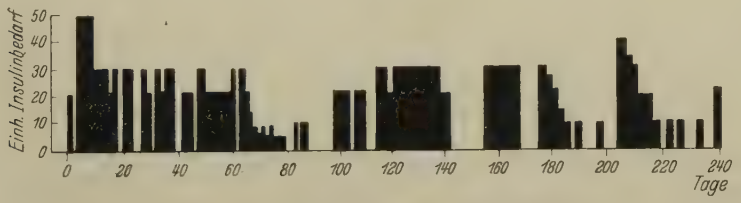


Abb. 1. Zuckerfreiheit sichernde Insulinmengen.

Es handelte sich um einen weiblichen Hund von 12,5 kg Gewicht, dem im September 1928 das Pankreas total exstirpiert worden ist. Nachdem die Wundheilung vollendet war und das Tier sich von der Operation erholte, begann der Versuch 3 Wochen nach der Exstirpation des Pankreas. Das Tier bekam während des ganzen Versuchs gleiche Kost, bestehend aus getrocknetem Pferdefleisch und Hundekuchen, welches abgewogen mit

[16] Mansfeld, G.: Über neuere Bestrebungen zur Förderung der inneren Sekretion des Pankreas. In Karlsbader Ärztliche Vorträge, Bd. 11, S. 349. Jena, Gustav Fischer, 1929.

Wasser aufgekocht einmal des Tages dem Tier vorgelegt und restlos verzehrt wurde.

Der täglich entleerte und mit Katheter entnommene Harn wurde im Lohnsteinschen Saccharometer auf Zuckergehalt geprüft und die täglich einmal subcutan gespritzte Insulinmenge so lange gesteigert, bis der Harn zuckerfrei wurde. Der Versuch wurde 8 Monate lang fortgesetzt. Abb. 1 zeigt die Spontanschwankungen der Insulinempfindlichkeit. Die Ordinaten zeigen die Zahl der Insulineinheiten an, welche notwendig waren, um die Zuckerfreiheit zu sichern.

Wir sehen, daß die notwendige Insulinmenge meistens zwischen 20 und 30 I. E. schwankte, sie erhöhte sich ausnahmsweise auf 40 bzw. 50 I. E. Dieser gesteigerte Insulinbedarf dauerte aber nicht länger als einige Tage. Viel interessanter sind die Änderungen nach unten. Während der 8 Monate waren 3 Perioden, in welchen die notwendige Insulinmenge sehr geringe Werte erreichte, und zwar zwischen 5 und 10 I. E. schwankte. Die Dauer dieser stark gesteigerten Insulinempfindlichkeit betrug mehrere Wochen, einmal fast einen ganzen Monat.

Nach Abschluß des Versuchs wurde das Tier getötet. Bei der Obduktion konnte kein Pankreasgewebe gefunden werden.

Versuch 2.

Der zweite Hund, über den wir berichten, hatte ein Anfangsgewicht von 14 kg und stand ebenfalls 8 Monate lang unter Beobachtung. Die

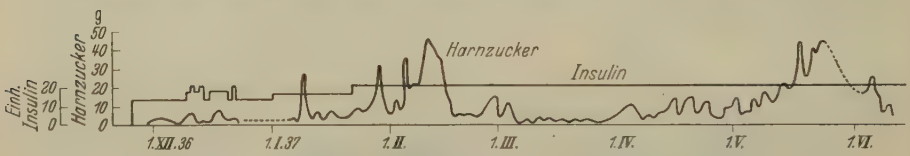


Abb. 2. Tägliche Insulinmengen und Harnzuckerausscheidung im Versuch 2.

Totalexstirpation des Pankreas erfolgte am 20. Oktober 1936. Nach etwas verzögerter Wundheilung begann der eigentliche Versuch 6 Wochen nach der Operation. Während der ganzen Versuchszeit bekam das Tier einmal des Tages das gleiche Futter, bestehend aus 700 g frischem Pferdefleisch und 400 g Reis, welches innerhalb 1—2 Stunden restlos verzehrt wurde. Das tägliche Futter enthielt 2188 Calorien (156 je kg Tier), von welchen 59% auf KH., 33% auf Eiweiß und 8% auf Fett fiel.

Dieser Versuch unterscheidet sich vom ersten darin, daß diesmal die verabreichte Insulinmenge konstant gehalten und die Änderung der täglichen Zuckerausscheidung festgestellt wurde. Das Insulin bekam das Tier täglich einmal subcutan gleichzeitig mit dem Futter.

Das Ergebnis ist aus Abb. 2 ersichtlich.

Nach einer orientierenden Vorperiode, in welcher wir bei einer täglichen Zufuhr von 12—16 I.E. die Zuckerausscheidung verfolgten, wurde Mitte Januar die Insulinmenge auf 20 E. erhöht. Die ausgeschiedenen Zuckermengen schwankten in diesem Versuch bei gleichbleibender Insulinmenge zwischen 0 und 50 g. Es ist interessant, daß diese Schwankungen nicht Ausschläge von kurzer Dauer waren, sondern als längere Perioden in Erscheinung traten. So sehen wir z. B. nach einer von Ende Januar bis Ende Februar währenden Periode hoher Insulinresistenz im Monat März eine so hohe Insulinempfindlichkeit auftreten, daß der Harn fast zuckerfrei wird. Im April nimmt die Insulinwirksamkeit allmählich ab und im Mai steigt die Zuckerausscheidung wieder auf so hohe Werte, wie wir sie im Januar beobachteten.

Um die Bedingungen dieser periodischen Schwankung der Insulinempfindlichkeit näher kennenzulernen, hatten wir 165 Tage nach der Pankreasentfernung die Schilddrüse unter Belassung zweier Epithelkörperchen exstirpiert.

Bekanntlich wurde von mehreren Autoren der Schilddrüse eine wichtige Rolle im KH.-Stoffwechsel zuerkannt (Rosenberg[10], Baranoff[11]), während andere einen Einfluß dieser Drüse auf den Verlauf des Pankreasdiabetes nicht beobachten konnten (Yriart[17], Dohanu. Lukens[18]).

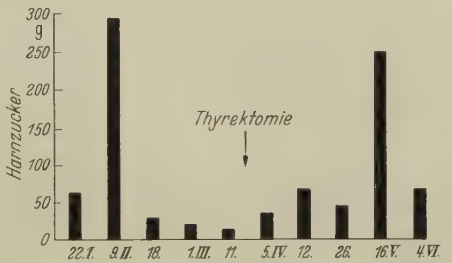


Abb. 3. Wöchentliche Zuckerausscheidung vor und nach Thyreoidektomie im Versuch 2.

Die Entfernung der Schilddrüse erfolgte in unserem Versuch Anfang April, ohne aber daß dies auf die Schwankungen der Insulinempfindlichkeit einen Einfluß gehabt hätte.

Eine gute Übersicht der Verhältnisse zeigt Abb. 3, in welcher die Schwankungen der je Woche ausgeschiedenen Zuckermengen vom Januar bis Mai dargestellt sind.

Versuch 3.

In der folgenden Tabelle 1 berichten wir in gekürzter Form über das Ergebnis eines weiteren Versuchs.

Einem weiblichen Hund von 13 kg wurde die Bauchspeicheldrüse am 24. November 1936 entfernt. 4 Wochen nach der Operation wurde mit dem Stoffwechselversuch begonnen. Das tägliche Futter bestand aus 400 g Pferdefleisch und 400 g Reis. Es enthielt 1861 Calorien (143 je kg Tier), und zwar 69% KH., 6% Fett und 25% Eiweiß. Das Tier erhielt täglich 16 Einheiten Insulin.

---

[17] Yriart, M.: C. r. Soc. Biol. **105**, 128 (1930). — [18] Dohan, F. C., u. F. D. W. Lukens: Amer. J. Physiol. **122**, 367 (1937).

Hier genügte eine Beobachtungszeit von $2^1/_2$ Monaten, um uns von den mächtigen Schwankungen der Insulinempfindlichkeit zu überzeugen, wie dies aus der nächsten Tabelle ersichtlich ist.

Tabelle 1.

Tage nach der Operation	Wöchentlich ausgeschiedener		Tägliche Insulingabe
	Harn ccm	Zucker g	Einheiten
42—49	4710	228	16
55—62	7110	534	16
68—75	3530	223	36

Bei gleichbleibender Insulinmenge stieg die Zuckerausscheidung innerhalb einer Woche auf mehr als das Doppelte, und es mußte die Insulinmenge von 16 Einheiten auf 36 gesteigert werden, um die Zuckerausscheidung auf den ursprünglichen Wert herabzusetzen. Das Tier erkrankte leider an Staupe und starb 3 Monate nach der Operation. Bei der Obduktion konnte kein Pankreasgewebe aufgefunden werden.

Versuch 4.

Ein ganz ähnliches Verhalten zeigte ein vierter Hund, dem wir die Bauchspeicheldrüse am 26. September 1938 entfernten. Nachdem das Tier sich von der Operation erholte, wurde es auf gleiche Nahrung gesetzt, bestehend aus 500 g Pferdefleisch und 250 g frischem Brot und 20 g Schweinefett, mit einem Caloriengehalt von 1315 (101 Cal.je kg).

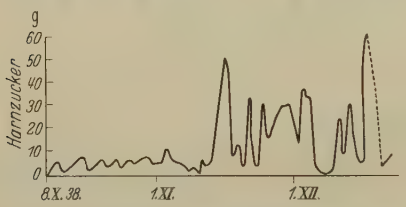


Abb. 4. Tägliche Harnzuckerausscheidung im Versuch 4.

Während des ganzen Versuchs, also vom 8. Oktober bis 23. Dezember, erhielt das Tier täglich 12 Einheiten Insulin. Die Schwankungen der Zuckerausscheidung sind aus Abb. 4 ersichtlich.

Besprechung der Versuche.

Die Versuche zeigen eindeutig, daß nach völligem Fehlen des Inselsystems periodisch auftretende, sehr bedeutende Intensitätsschwankungen der diabetischen Stoffwechselstörung in Erscheinung treten, welche auf eine außerinsulär bedingte Änderung der Insulinempfindlichkeit zurückzuführen sind. Die Schilddrüse scheint dabei nicht beteiligt zu sein, denn ihre Entfernung brachte die Schwankungen nicht zum Schwinden. In Anbetracht der Tatsache, daß auch beim menschlichen Diabetes nicht selten bedeutende Schwankungen der Zuckertoleranz beobachtet und meist als Folge veränderter Insulinproduktion angesehen werden, scheint der Nachweis von

Interesse, daß solche Änderungen der Stoffwechsellage auch bei fehlendem Inselgewebe, und zwar durch Schwankungen der Insulinempfindlichkeit auftreten können und stützen die Anschauung über die Bedeutung außerinsulärer Faktoren für die diabetische Stoffwechselstörung.

Zusammenfassung.

1. Es wurde an Hunden nach Totalexstirpation des Pankreas bei strengster Diät und gleicher Insulinzufuhr bis zu 8 Monaten die Zuckerausscheidung — und in einem Versuch die zur Erreichung von Zuckerfreiheit notwendige Insulinmenge bestimmt.

2. Es zeigte sich, daß bei gleichbleibender Insulinzufuhr die Zuckerausscheidung sehr beträchtliche und periodenweise auftretende Schwankungen aufweist und die zur Erreichung von Zuckerfreiheit notwendige Insulinmenge zwischen 5 und 40 Einheiten schwankte.

3. Da bei der Obduktion kein Pankreasgewebe aufgefunden werden konnte, so können die Änderungen der Insulinempfindlichkeit nur durch außerinsuläre Faktoren bedingt sein.

4. Die Entfernung der Schilddrüse vermochte die Schwankungen der Insulinempfindlichkeit nicht zu verhindern.

5. Die Versuche stützen die Auffassung über die Bedeutung außerinsulärer Faktoren für die diabetische Stoffwechselstörung.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin.

Studien über Methämoglobinbildung.

XIV. Mitteilung: Über die Rückbildung des Methämoglobins bei Gegenwart von Alkohol.

Von

Fritz Jung.

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 13. März 1939.)

I.

Schon lange ist bekannt, daß im Blute erzeugtes Methämoglobin verhältnismäßig rasch verschwindet. Dabei ist ebenso die Art des Methämoglobinbildners wie die Geschwindigkeit, mit der er sich aus dem Blute entfernt, von Bedeutung.

Dittrich[1] transfundierte einem gesunden Hunde das Blut eines anderen, den er mit Azetanilid vergiftet hatte. Das so übertragene Methämoglobin war nach $2^1/_2$ Stunden noch voll nachweisbar, einen halben Tag später jedoch völlig verschwunden. Nach Dittrich wird bei einer geringen Methämoglobinmenge dieses innerhalb der Blutkörperchen vollständig zurückgebildet: erst bei schwereren Vergiftungen fand er ein nachträgliches Zugrundegehen methämoglobinhaltiger Blutkörperchen. Sakurai[2] verfolgte die Rückbildung unter dem Einfluß von Organbrei, ferner den Einfluß reduzierender Stoffe. Gegen seine Methode könnten jedoch manche Einwände vorgebracht werden. Dennoch konnte er soviel ermitteln, daß Leber und Lungenbrei in vitro die Rückbildung beträchtlich fördern. Methylenblau und Thiosulfat beschleunigten sie sowohl in vitro wie in vivo.

Nach einer Vergiftung mit einem Methämoglobinbildner vollzieht sich die Rückbildung noch in dessen Gegenwart, zumindest befinden sich Abbauprodukte von diesem im Organismus. Daß diese auf den Rückbildungsvorgang einen Einfluß ausüben können, erscheint nicht sehr abwegig. Um klare Verhältnisse zu schaffen, lag es daher nahe, diese einmal in einem Tierkörper zu verfolgen, dessen Funktionen nicht irgendwie durch eine vorhergehende oder noch ablaufende Vergiftung verändert sind. Auch die Beeinflussung der Rückbildung durch die Gegenwart eines weiteren Stoffes — wie des Äthylalkohols — läßt sich dann viel besser beurteilen.

Die ungünstige Wirkung von Alkoholgenuß bei einer an sich noch harmlosen Anilinvergiftung ist schon lange bekannt. Wie Schwedtke[3] feststellte, ist bei einer gleichzeitigen Alkoholgabe die tödliche Dosis von Anilin wesentlich kleiner. Von einer bestimmten Anilinmenge wird eine

[1] Dittrich: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **29**, 247 (1892). — [2] Sakurai: Ebenda **107**, 287 (1925). — [3] Schwedtke: Ebenda **188**, 121, 130, 138 (1938).

um etwa $^1/_3$ vermehrte Methämoglobinmenge gebildet, wobei die verwandte Alkoholdosis allein gegeben noch keine Spur einer narkotischen Wirkung zeigt. In weiteren Versuchen gab Schwedtke den Alkohol später, etwa zum Zeitpunkt des maximalen Methämoglobingehaltes. Dieser lag bei einer Anilinvergiftung etwa 4 Stunden nach der Gabe, während 2 Stunden später nur noch die Hälfte des maximalen Methämoglobinwertes vorhanden war. Dagegen war bei Alkoholgegenwart die Abnahme in dieser Zeit kaum merklich. Daraus folgert Schwedtke, daß der Alkohol vornehmlich beim Rückbildungsvorgang nach der Vergiftung eine Rolle spielen müsse. Doch lassen sich dann immer noch zwei Möglichkeiten denken: Einmal könnte der Alkohol in den Vorgang der Rückbildung direkt eingreifen. Er kann aber auch irgendwie die Entfernung des methämoglobinbildenden Systems (z. B. nach Heubner[4] p-Aminophenol-Chinonimin) beeinflussen.

Um hier eine Entscheidung zu treffen, unternahm bereits Möbus[5] einige Versuche: Katzen wurden zum Teil entblutet und im gewonnenen Blut der Blutfarbstoff in Methämoglobin umgewandelt. Nach Freiwaschen von dem Methämoglobinbildner wurden die Blutkörperchen in Kochsalzlösung aufgeschwemmt und wieder derselben Katze infundiert. Auf diese Art konnte mit einem gewissen zeitlichen Abstand an den gleichen Tieren ohne und mit Alkohol die Rückbildung des Methämoglobins unabhängig von einem vergiftenden System verfolgt werden. Das Ergebnis von zwei gelungenen Versuchen sprach gegen einen Einfluß des Alkohols auf die Rückbildung des Methämoglobins (vgl. unten S. 470). Für weitergehende Folgerungen war aber diese Zahl von Versuchen zu klein und so war es erforderlich, dies Ergebnis durch weitere gleichartige Versuche zu stützen.

II. Methodik.

a) Allgemeine Anordnung.

Sämtliche Versuche wurden an Katzen durchgeführt. Jedes Tier kam zweimal zum Versuch, das eine Mal mit, das andere Mal ohne gleichzeitige Alkoholgabe. Dazwischen erhielt es 1—3 Wochen Zeit zur Erholung. Während der Versuche befand sich das Tier in möglichst schwacher Urethannarkose. Zur Präparation der Gefäße wurde kurz Äther gegeben. Je nach Größe des Tieres wurden 30—40 ccm Blut aus der A. femoralis entnommen. Dieses wurde mit einem großen Überschuß einer 0,6%igen Natriumnitritlösung, die zur Erzielung von Isotonie noch 0,4% Kochsalz enthielt, versetzt. Nach der Braunfärbung wurden die Blutkörperchen abzentrifugiert, dann mehrere Male mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen. Schließlich wurden sie mit ebensolcher wieder zum ursprünglichen Blutvolumen aufgefüllt und der Katze intravenös infundiert (meist in die

[4] Heubner: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **72**, 241 (1913). — [5] Heubner u. Möbus: Verh. dtsch. pharmak. Ges. **1938**, S. 223.

V. saphena, in einem Falle in die V. jugularis). Vor der Infusion, unmittelbar nachher und von da ab in Zwischenräumen von etwa 1 Stunde wurden jeweils 2 ccm Blut zur Methämoglobinbestimmung aus der A. femoralis entnommen. Nach rund 7 Stunden wurde abgebrochen, die Wunde geschlossen und das Tier zur Erholung in den Stall gebracht. In zwei Fällen wurde sehr viel Blut entnommen, davon starb das eine Tier am Ende des Versuchs, das andere 2 Tage darauf. Sonst konnten immer beide Versuche durchgeführt werden. Die Wunde der ersten Blutentnahme heilte meist ohne Komplikationen, in zwei Fällen überhaupt primär. Bei der zweiten Blutentnahme kam es anschließend in zwei Fällen zu schwereren Infekten, die im Verlauf von 8 Tagen zum Tode führten (Versuch 6 und 7).

Der Alkohol wurde kurz vor der Methämoglobininfusion subcutan gegeben, im allgemeinen 0,1 –0,2 ccm/kg. In dieser Konzentration fand ihn Schwedtke wirksam. Bei einer unbehandelten Katze gab diese Dosis eben erkennbare Störungen in der Gangsicherheit und eine geringe affektive Veränderung, dagegen keine Spur einer eigentlich narkotischen Wirkung. Im Versuch 3 und 4 wurde bei der ersten Methämoglobininfusion Alkohol gegeben, in den Versuchen 1, 2 und 5 bei der zweiten.

b) Methämoglobinbestimmung.

Schwedtke wie Möbus hatten das Methämoglobin in ihren Versuchen aus der Differenz der kolorimetrischen und gasanalytischen Hämoglobinbestimmung erhalten. Dabei muß man mit ziemlich großen Methämoglobinmengen arbeiten, auch ist die Fehlerbreite der Haldane-, wie der Bürker-Methode nicht unbedeutend. Neuere Arbeiten, wie die von Barkan[6], sowie Fehlow, Wolff und Steinkamp[7], lassen auch fraglich erscheinen, ob die Differenzmethode zur Methämoglobinbestimmung einwandfrei ist. Beide erhielten nämlich Ergebnisse, die für große und von Fall zu Fall verschiedene Differenzen zwischen Sauerstoffbindung, Kolorimeterwert für das Hämoglobin und Eisengehalt sprechen. So meint Wolff sogar, daß in manchen Fällen über 20% des Hämoglobins für die Sauerstoffbindung ausfallen. Wäre dieser Ausfall Folge einer Methämoglobinbildung, so wäre dies ohne weiteres zu sehen.

So bestand also das Bedürfnis, einen anderen Weg zu finden. Schon Haurowitz[8] machte den Vorschlag, das Methämoglobin mit Hilfe seiner spezifischen Lichtabsorption zu bestimmen, wozu eine Stelle des Spektrums geeignet ist, an der das Hämoglobin nicht wesentlich absorbiert. Stämpfli und Wilbrandt[9] haben eine Methode ausgearbeitet, das Methämoglobin auf Grund seiner Eigenschaft als Indikator zu bestimmen. Die Extinktion von Methämoglobin für das Licht der D-Linie des Natriumdampfes erhöht

[6] Barkan: Z. physiol. Chem. **248**, 96 (1937) und frühere Mitteilungen. — [7] Fehlow, W., K. Wolff u. F. Steinkamp: Klin. Wschr. **1938**, S. 1435. — [8] Haurowitz: Z. physiol. Chem. **138**, 68 (1924). — [9] Stämpfli, R., u. W. Wilbrandt: Verh. der freien Vereinigung Schweizer Physiologen, Juni 1937.

sich fast auf das Doppelte, wenn sich die Reaktion der Lösung von $p_H = 7$ auf $p_H = 10$ ändert. Bei einigen Versuchen nach diesem Verfahren, die ich gemeinsam mit R. Havemann ausführte, erzielten wir keine sehr günstigen Ergebnisse. Deshalb verwendete ich unter Verwertung eines von Havemann konstruierten lichtelektrischen Kolorimeters eine Bestimmungsmethode, die die Extinktionsänderung für die D-Linie bei Überführung des Methämoglobins in Fluormethämoglobin ausnutzt. Die Einzelheiten dieser Methode werden an anderer Stelle ausführlich wiedergegeben[10].

Im einzelnen ging ich folgendermaßen vor: Jeweils wurden 2 ccm Blut in 10 ccm Wasser hämolysiert. Etwaige feine Fibrinflocken wurden abfiltriert. Je 5 ccm der Blutlösung wurden zu zwei Proben von 5 ccm Phosphatpuffer nach Sörensen mit einem p_H von 6,9 gegeben. In die eine Probe kam 1 ccm einer 2%igen Fluornatrium-, in die andere ebensoviel Kochsalzlösung. Dann wurde im Kolorimeter die Absorption beider Proben für das Licht der D-Linie gemessen. Der Methämoglobingehalt der Blutverdünnung (von 1 : 13,2) konnte in Absolutprozenten aus einer Eichkurve entnommen werden.

c) Eisenbestimmung.

In verschiedenen Blutproben wurden Analysen auf Eisen in der üblichen Weise durchgeführt. Im einzelnen bin ich den Angaben von K. Wolff[7] gefolgt. Während zweier Versuche wurde das leicht abspaltbare Eisen mit der von Barkan angegebenen Methode verfolgt. Daraus sollte ein Urteil über einen etwaigen Abbau des Hämoglobins gewonnen werden.

III. Versuchsergebnisse.

Die an sieben Tieren erhaltenen Ergebnisse sind in den folgenden Tabellen und Kurven niedergelegt. Dabei bedeutet

t die Zeit, die seit Ende der Methämoglobininfusion verflossen war, in Stunden,

x die Verschiebung der Photozelle in Teilstrichen des Kolorimeters, als Maß für die Änderung der Lichtabsorption. Da auch normales Blut einen gewissen, allerdings konstanten Ausschlag gibt, ist sie um diesen Betrag zu verkleinern; somit:

X die auf das vorhandene Methämoglobin zurückzuführende Verschiebung,

a die aus der Eichkurve entnommene Methämoglobinkonzentration der verwandten Blutverdünnung und

b die absolute Konzentration des Methämoglobins im Blute, beides in %.

Versuch 1. Katze von 3,2 kg. 9 ccm Urethan 25 % subcutan. Äther zur Incision; Tabelle 1.

[10] Havemann, R., B. v. Issekutz jun. u. F. Jung: Biochem. Z. **301**, 116 (1939).

Tabelle 1.

		t	x	X	$\alpha \cdot 10^3$	b
	Vor Methämoglobininfusion ..	0	30	—		
	Nach Methämoglobininfusion	0	225	195	93	1,25
		1	160	130	61	0,81
		3	130	100	47	0,62
		4	110	80	38	0,50
		5	85	55	25	0,33
		6	50	20	10	0,13
		7	35	5	5	0,06
3 Wochen später, Gewicht 3,2 kg	Vor Methämoglobininfusion ..	0	40	—		
	Nach Methämoglobininfusion, zugleich 0,5 ccm Äthylalkohol in 0,9 %iger Kochsalzlösung subcutan	0	280	240	122	1,59
		$^3/_4$	220	180	87	1,17
		$1^3/_4$	170	130	62	0,82
		$2^3/_4$	140	100	48	0,63
		4	120	80	38	0,50
		$5^1/_2$	90	50	25	0,33
		$6^3/_4$	60	20	10	0,13

Versuch 2. Katze 3,1 kg. Vorbehandlung wie im Versuch 1; Tabelle 2.

Tabelle 2.

		t	x	X	$\alpha \cdot 10^3$	b
	Vor Methämoglobininfusion ..	0	40	—		
	Nach Methämoglobininfusion	0	270	230	115	1,52
		1	190	150	71	0,93
		2	160	120	57	0,75
		3	130	90	42	0,55
		4	120	80	38	0,50
		5	110	70	32	0,42
		$6^1/_2$	100	60	28	0,37
2 Wochen später, Gewicht 3,0 kg	Vor Methämoglobininfusion ..	0	30	—		
	Nach Methämoglobininfusion, zugleich 0,7 ccm Alkohol	0	260	230	115	1,52
		$^3/_4$	200	170	82	1,08
		$1^3/_4$	180	150	71	0,94
		$2^3/_4$	150	120	57	0,75
		$4^1/_4$	105	75	35	0,46
		$5^3/_4$	75	55	25	0,33
		7	65	35	17	0,23

Versuch 3. Katze von 2,3 kg. Vorbehandlung wie Versuch 1. 0,5 ccm Alkohol subcutan in 0,9 %iger Kochsalzlösung bei der ersten Methämoglobininfusion. Bestimmung des leicht abspaltbaren Eisens: in allen Proben gleich: $0{,}3 \cdot 10^{-6}$ Mol/ccm Blut. — 2 Wochen später 2,3 kg; zweite Methämoglobininfusion, kein Alkohol. Gemessene Zahlen vgl. Abb. 1.

Versuch 4. Katze von 3 kg. Vorbehandlung wie Versuch 1. 0,3 ccm Alkohol subcutan in 0,9 %iger Kochsalzlösung bei der ersten Methämoglobininfusion. 1 Woche später 2,8 kg; zweite Methämoglobininfusion. In mehreren Proben Bestimmung des Gesamteisens: stets übereinstimmend $280\,\gamma$ ($= 5 \cdot 10^{-6}$ Mol) je ccm Blut. Ebenso leicht abspaltbares Eisen

stets konstant: 0,3—0,35 · 10^{-6} Mol je ccm Blut. Zahlen für Methämoglobin vgl. Abb. 2.

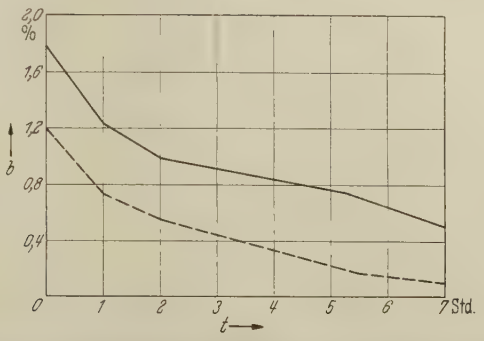


Abb. 1. Versuch 3. b = Methämoglobinkonzentration, t = Zeit seit der Methämoglobingabe
ausgezogen: ohne
gestrichelt: mit
} Alkoholgabe.

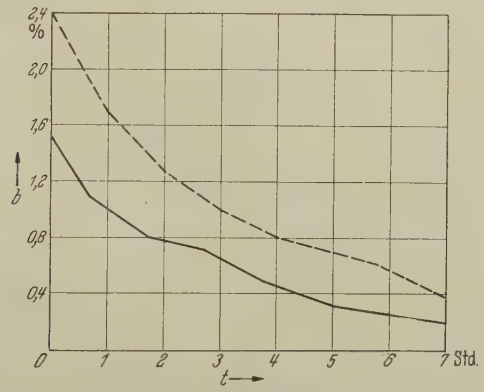


Abb. 2. Versuch 4. Bezeichnung wie Abb. 1.

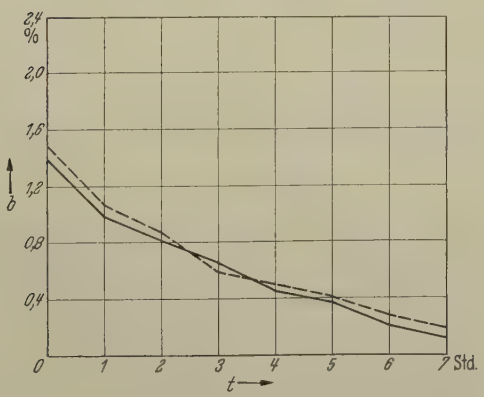


Abb. 3. Versuch 5. Bezeichnung wie Abb. 1.

Versuch 5. Katze von 2,3 kg. Vorbehandlung wie Versuch 1. 2 Wochen nach der ersten Methämoglobininfusion (ohne Alkohol) folgte die zweite

unter Verabreichung von 0,5 ccm Alkohol in 0,9 % Kochsalz. Gemessene Zahlen vgl. Abb. 3.

Versuch 6. Katze von 2,45 kg. Vorbehandlung wie Versuch 1. Tier stirbt nach der ersten Infusion (ohne Alkohol). Gemessene Zahlen vgl. Abb. 4.

Versuch 7. Katze, 3,2 kg. Verlauf wie Versuch 6; vgl. Abb. 4.

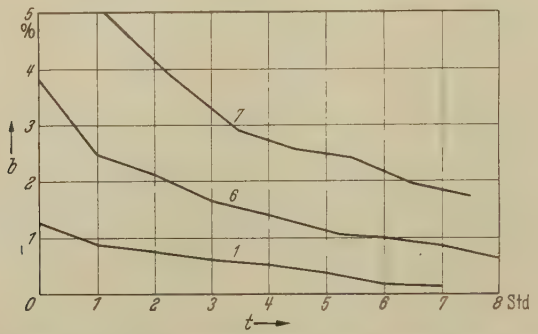


Abb. 4. Verlauf der Rückbildung des Methämoglobins (ohne Alkohol) bei verschiedenem Anfangsgehalt nach der Infusion. 3 verschiedene Katzen aus Versuch 7, 6 und 1. b = % Methämoglobin (absolut).

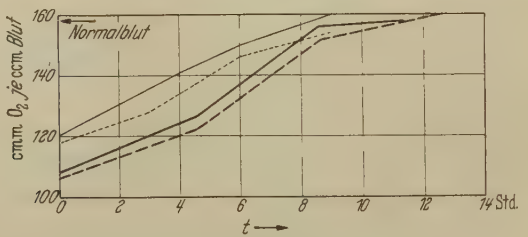


Abb. 5. Zwei Versuche von Möbus.

a dick ausgezogen: ohne / dick gestrichelt: mit } Alkohol. b dünn ausgezogen: ohne / dünn gestrichelt: mit } Alkohol.

Abszisse: Zeit nach Methämoglobininfusion, Ordinate: Sauerstoffkapazität.

Auf Abb. 5 sind die von Möbus[5] erhobenen Befunde ebenfalls wiedergegeben; sie stimmen trotz abweichender Methodik grundsätzlich mit den meinen überein.

IV. Besprechung.

Aus allen Versuchen geht eindeutig hervor, daß der Alkohol bei der Rückbildung des Methämoglobins durch das unvergiftete Gewebe keinen Einfluß ausübt. Die Kurven laufen überall auffallend genau parallel. Die verwandte Alkoholdosis war gleich oder wenig höher als die von Schwedtke[3] angegebene. Dieser erhielt aber, wie erwähnt, ganz bedeutende Änderungen im Verlauf der Rückbildung. Somit verbleibt allein die Möglichkeit, daß der Alkohol irgend etwas mit der Entfernung des methämoglobinbildenden Systems aus dem Blute zu tun hat.

Die Rückbildungsgeschwindigkeit zeigte sich von der absoluten Menge des Methämoglobins abhängig. Sie stieg mit dieser an, wie sich besonders gut aus einem Vergleich von Versuch 1, 6 und 7 ergibt (siehe Abb. 6). Die rasche Rückbildung des Methämoglobins in Schwedtkes Versuchen ist also nicht für die Anilinvergiftung spezifisch, sondern durch die relativ große Menge Methämoglobin im Blute bedingt.

In Versuch 3 und 4 wurde während der Rückbildungsdauer auch das leicht abspaltbare Eisen in den einzelnen Blutproben bestimmt. Nach der Meinung von Barkan[6] ist dieses ein Anzeichen für das Auftreten von Abbauprodukten des Blutfarbstoffes. Da es sich während beider Versuche völlig konstant zeigte, ist eine Zerstörung des Methämoglobins wohl auszuschließen. Ferner blieb, wie in Versuch 4 bestimmt wurde, auch der Gesamteisengehalt der einzelnen Blutproben konstant. Ein Verschwinden des Methämoglobins aus dem Kreislauf war damit ausgeschlossen, da sonst der Eisengehalt des Blutes hätte absinken müssen. Es besteht also die Ansicht von Dittrich[1] zu Recht, nach der das Methämoglobin nicht zerstört, sondern wieder zum normalen Blutfarbstoff reduziert wird.

Zusammenfassung.

1. Alkohol beeinflußt die Rückbildung von Methämoglobin im Blute überhaupt nicht. Sein Einfluß bei der Vergiftung durch Anilin u. dgl. greift daher wahrscheinlich bei der Entfernung des Methämoglobinbildners aus dem Organismus ein.

2. Methämoglobin wird innerhalb des Blutes reduziert, nicht aus dem Kreislauf entfernt.

Aus dem Pharmakognostischen Institut der Universität Innsbruck.

Über einige synthetische Stoffe mit saponinähnlicher Wirkung.

Von

R. Fischer und **D. Toth.**

(Eingegangen am 1. April 1939.)

In einer in diesem Archiv erschienenen Arbeit [Fischer und Toth (1)] wurde über die Wirkungen der Agaricin-, Abietin- und Lichesterinsäure berichtet. Es wurden bei diesen Stoffen einige Eigenschaften festgestellt, die sonst als charakteristisch für Saponine bezeichnet werden.

Im folgenden wurden noch einige synthetische Substanzen in gleicher Richtung untersucht.

Zephirol.

Zephirol ist laut Angaben der herstellenden Firma die wässerige Lösung eines Gemisches hochmolekularer Alkyl-dimethyl-benzyl-ammoniumchloride mit einer geringen Menge Riechstoff. Dem Zephirol kommt eine bedeutende bakterientötende Wirkung zu, von empfindlicher Schleimhaut wird es reizlos vertragen und ist bei peroraler Verabreichung relativ wenig giftig. Kaninchen vertragen 3—5 ccm der handelsüblichen Lösung pro Kilogramm Körpergewicht.

Die Konzentration der uns vorliegenden stark schäumenden käuflichen Lösungen betrug etwa 10%, wie durch Abdunsten und Trocknen im Vakuum bestimmt werden konnte.

Bei den nun folgenden Versuchen beziehen sich die Konzentrationsangaben auf feste Substanz, wie sie durch Verdunsten des Wassers gewonnen werden konnte.

Die 1%ige Lösung besitzt eine Wasserstoffionenkonzentration von $p_H = 5{,}8$ und bleibt beim Verdünnen mit Wasser klar, schäumt in sauren und alkalischen Medien. Bemerkenswert ist vor allem, daß das Zephirol hämolytisch wirkt, wie bereits von Domagk (2) erwähnt wurde. Die Bestimmung des hämolytischen Index bei verschiedener Wasserstoffionenkonzentration ergab folgende Werte gegenüber defibriniertem Rinderblut: bei p_H 6 = 30000, bei p_H 7,4 = 30000, p_H 9.6 = 33000, gegenüber gewaschenen Blutkörperchen bei p_H 7.4 = 45000. Der Einfluß des Cholesterins auf die Hämolysewirkung des Zephirols ist sehr stark und läßt den Index auf etwa 1 : 1000 absinken. Diesbezügliche Versuche wurden durch bloßes Verreiben von Cholesterin in der Reibschale mit einer Lösung von Zephirol bei Zimmertemperatur durchgeführt.

Ein weiteres Charakteristikum solcher Substanzen mit saponinähnlichen Eigenschaften ist die resorptionsfördernde Wirkung. Zur

Feststellung der resorptionsfördernden Wirkung im Tierversuch bedient man sich am besten des von Kofler und Fischer (3) angegebenen Verfahrens. Fröschen wird hierbei die zu prüfende Substanz zusammen mit einer bestimmten Dosis Curare per os verabreicht. Zeigen sich Lähmungserscheinungen, dann kann geschlossen werden, daß eine gewisse Menge des an sich schwer resorbierbaren Curare durch die Gegenwart der betreffenden Substanz vom Magendarmtrakt weitgehend aufgenommen wurde. Eine solche Substanz kann somit als resorptionsfördernd bezeichnet werden. Bedingung ist hierbei, daß die Substanz selbst in dieser Konzentration völlig unschädlich ist und daß das Vielfache dieser Dosis noch ohne Symptom einer Schädigung vertragen wird.

Froschversuche, betreffend die resorptionsfördernde Wirkung.

Versuch Nr.	Froschgewicht in g	Curare in γ pro g Frosch	Zephirol in γ pro g Frosch	Lähmung nach
1	67	—	50	Keine Wirkung
2	55	—	100	„ „
3	85	15	10	40 Min.
4	71	15	5	45 „
5	94	15	2	Keine Wirkung
6	54	15	3	50 Min.
7	70	15	2,5	Sehr geringe Wirkung
8	55	15	3	50 Min.
9	62	15	3	50 „
10	56	15	3	50 „

Die resorptionsfördernde Dosis beträgt also 3 γ pro g Frosch, das ist $^1/_{30}$ einer ohne Symptome vertragenen Zephiroldosis ohne Curare. Gearbeitet wurde mit Rana esculenta. Diese resorptionsfördernde Wirkung läßt sich durch Cholesterin praktisch aufheben. Es wurde wie oben — durch Verreiben eines Gemisches von Zephirol mit Cholesterin — im Verhältnis 1 : 2 hergestellt. Es bleibt unter diesen Bedingungen eine Dosis von 50 γ Zephirol am Frosch noch ohne lähmende Wirkung. Die 17fache Menge der wirksamen Dosis wurde durch Cholesterin vollständig entgiftet.

Die Untersuchungen bezüglich der permeabilitätssteigernden Wirkung der Froschhaut gegenüber Strychnin [Roberg (4)] — die in gewisser Hinsicht mit der resorptionsfördernden Wirkung im Zusammenhang steht — zeigen die folgenden Resultate:

Winterfrösche von 30 g Gewicht, Papierfleck 17 mm Durchmesser.

Versuch Nr.	Papierfleck getränkt mit einer Lösung von: Strychn. nitr. %	Zephirol %	Reflexerregbarkeit gesteigert nach	Krämpfe nach
1	0,3	1	25—30 Min.	40 Min.
2	0,3	1	25—30 „	45 „
3	0,3	1	30 „	45 „
4	0,3	—	35—40 „	100—105 Min.
5	0,3	—	40 „	100—110 „

Wir sehen also, daß die Zeit, die bis zum Eintritt der Strychninkrämpfe verstreicht, auf weniger als die Hälfte absinkt, wenn Zephirol zugegen ist.

Auf Fische wirkt Zephirol stark giftig. Die Fische werden in eine mit Brunnenwasser bereitete Lösung von Zephirol gebracht. Als Fischindex bezeichnet man diejenige Konzentration der Lösung, bei der der Fisch (bzw. drei Exemplare) nach genau 1 Stunde tot ist. Dieser beträgt beim Zephirol 1 : 50000.

Zephirol zeichnet sich als stark oberflächenaktiver Körper aus. Die Bestimmung der Normaltropfenzahl ergab folgende Werte:

1 ‰ige Lösung Normaltropfenzahl.....	143
1 %ige Lösung Normaltropfenzahl.....	200

Die Tropfenzahl sowie die hämolytische Wirkung sind unabhängig von der Wasserstoffionenkonzentration.

Die Fähigkeit, feinverteilten Stoffen den Durchgang durch das Filter zu erleichtern (Peptisation), ist hier beim Zephirol deutlich ausgeprägt. Mit Carbo medicinalis Merck wurde ein stark kohlehaltiges Filtrat erhalten. Die Bestimmung der Schaumfähigkeit erfolgte im Reihenversuch in fallenden Konzentrationen, wobei die Verdünnung in der Eprouvette als Schaumzahl gilt, bei der nach dem Schütteln ein Schaum von 1 cm Höhe sich bildet. Die Schaumzahl beträgt 1 : 10000.

Zephirol zeichnet sich ferner durch hydrotropische Wirkung aus. Versetzt man nach Hadjioloff (5) eine Zephirollösung mit einigen Tropfen gesättigter alkoholischer Lösung von Sudan III, so bleibt das Sudan III in Lösung, während es bei Verwendung von Wasser unter starker Trübung ausfällt. In gleicher Weise wird von Zephirol auch Cholesterin in Lösung gehalten, und zwar unabhängig vom Verdünnungsgrad. Der Versuch wird in der Weise durchgeführt: Ein Tropfen der mit Cholesterin behandelten wässerigen Lösung der Substanz wird nach dem Filtrieren — der Tropfen muß völlig klar sein — auf dem Objektträger mit Alkohol befeuchtet, erwärmt und dann Digitoninlösung aufgebracht. Es bilden sich Nadeln von Digitonin-Cholesterid als Zeichen, daß in der wässerigen Lösung Cholesterin enthalten war. Die maximale Löslichkeit des Cholesterins in Zephirol beträgt etwa 1 : 100. In der Wärme löst sich die doppelte Menge, bei Abkühlung fällt das Cholesterin aus.

Schließlich wurde die Wirkung auf Hefe bzw. auf die Alkoholgärung durch Hefe geprüft. Die Untersuchungen wurden in folgender Weise durchgeführt: Es wurde eine Reihe von Gärungsröhren mit fallenden Zephirolkonzentrationen aufgestellt. Hefe- und Zuckermengen sind konstant. Die Gärungsröhren wurden mit Wasser auf 20 ccm aufgefüllt und 1 g gereinigte Hefe zugegeben, dann 1 Stunde unter mehrmaligem Schütteln stehengelassen. Nachher wurde 1 g Zucker zugegeben, mit Wasser aufgefüllt und so für die Gärung hergerichtet.

Versuch Nr.	Verwendete Zephirolmenge in mg%	Sichtlicher Anfang der Gärung	Gasproduktion nach 1 Std. in ccm
1	0,25	10 Min.	16
2	0,50	10 „	15
3	1,25	10 „	14
4	2,50	10 „	13
5	5,00	10 „	11
6	10,00	10 „	6
7	15,00	10 „	1
8	25,00	30—40 „	$^1/_{10}$ (in 15 Std. 2 ccm)
9	40,00	—	Totale Hemmung
10	50,00	—	„ „
I	Wasser	10 Min.	14
II	„	10 „	15

Die Gärung tritt schon meistens in 10 Minuten ein, dort, wo die Konzentration des Zephirols höher ist, beginnt sie etwas später.

Der Einfluß auf die Alkoholgärung durch Hefe ist stark hemmend, 1 : 2500 wirkt schon total hemmend nach den Ergebnissen obenstehender Versuche. Bei niedrigen Konzentrationen ist sogar eine geringe Förderung der Gärung zu beobachten. Diese geringe stimulierende Wirkung konnte durch eine Anzahl diesbezüglicher Versuche sichergestellt werden. Auch Schoeller und Gehrke (5) erwähnen diese gelegentlich von Untersuchungen mit Abietinsäure und anderen organischen Verbindungen. Auch bei den Saponinen findet sich diese gärungshemmende Wirkung. Nach Satava genügten schon 0,02—0,03 g Rübensaponin, um die Gärung in 100 g Flüssigkeit zu verhindern. Nach dieser Wirkung könnten wir Zephirol zu den „hochwirksamen Saponinsubstanzen" zählen, wie Cyclamin und Digitonin.

Schließlich wurde noch versucht, Zephirol mit Hilfe der Kapillaranalyse, die sich beim Saponinnachweis gut bewährt hat, nachzuweisen [Kofler, Fischer, Newesely (7)].

Man läßt hierbei die zu prüfende Substanz in wässeriger Lösung von einem Filterpapierstreifen aufsaugen, der am unteren Ende eine Schranke von trockenem Cholesterin (hergestellt durch Auftropfen einer alkoholischen Lösung) besitzt. An der Cholesterinschranke wird das Saponin als Cholesterid gebunden und so festgehalten. Es kann dann nach Behandlung mit Xylol in der Schranke mit Blutgelatine nachgewiesen werden. Diese Methodik konnte jedoch beim Zephirol und auch bei den im folgenden angeführten Sapaminen nicht angewendet werden, da alle diese Substanzen in Xylol und Äther löslich sind.

Sapamine und ähnliche Verbindungen.

Sapamine sind quaternäre Aminverbindungen mit Fettsäure und besitzen auch in saurem Milieu Seifeneigenschaft. Diese basischen Seifen sind je nach den Eigenschaften der ihnen zugrundeliegenden Fettsäuren in wasserfreiem Zustand ölig, von salbenartiger Konsistenz oder kristallinisch.

Diese Sapamine wurden durch Alkylierung in ihren Eigenschaften dahingehend verändert, daß sie sowohl in saurem als in alkoholischem Bereich wasserlöslich sind.

Sie werden in der Technik als Nährmittel und Emulgatoren verwendet und haben sich auch in der Pharmazie bewährt.

Wir unterscheiden folgende Sapaminsorten (sie wurden uns in freundlicher Weise von der „Ciba" zur Verfügung gestellt):

Oleyl Sapaminbase, Stearyl Sapaminbase. Von diesen lassen sich leicht Salze herstellen, die in Gegenwart der Base wasserlöslich sind. Benzoe-, Milch-, Apfel- und Salicylsäuresalze. Ferner: Sapamin M. S.; K. W.; Invadin B; C.; Ultravone k; W; F. A.

Einige von den obengenannten Substanzen zeichnen sich durch besonders starke hämolytische Wirkung aus. (Die bei den Sapaminen im Durchschnitt erhaltenen hämolytischen Indizes betragen 30000—40000.)

Zu unseren Versuchen stellten wir Lösungen von Stearyl- und Oleyl-Sapaminbase mit molekularen Mengen Apfelsäure her (0,85 g Base + 0,15 g Apfelsäure ergibt eine 1%ige Lösung von $p_H = 6$). Die mit Stearylsapaminbase hergestellte scheidet mit der Zeit eine weiße, flockige Substanz aus, während die Oleylsapaminbase ständig klar bleibt. Verwendbar sind diese Lösungen nur in saurem Medium. Die im folgenden beschriebenen Versuche wurden mit apfelsaurem Salz durchgeführt. Ein Unterschied in der Wirkung des Stearyl- und Oleyl-Sapaminmalates besteht nicht.

Der hämolytische Index (defibriniertes Rinderblut) beträgt bei p_H 6 = 40000, mit gewaschenen Blutkörperchen 70000. Die Sapamin-Cholesterinmischung 1 : 2 gibt einen hämolytischen Index bei p_H 6 = 1000.

Die Ergebnisse der Prüfung auf resorptionsfördernde Wirkung siehe in folgender Tabelle.

Versuch Nr.	Froschgewicht in g	Curare in γ pro g Frosch	Stearyl-Sapamin-malat bzw. Oleyl-Sapaminmalat in γ pro g Frosch	Lähmung nach
1	62	—	50	Keine Wirkung
2	74	—	100	„ „
3	58	—	150	„ „
4	60	15	50	30 Min.
5	57	15	40	30 „
6	65	15	30	30 „
7	68	15	20	30 „
8	56	15	10	30 „
9	72	15	5	35 „
10	64	15	3	40—50 „
11	66	15	4	35 „
12	70	15	3	40—50 „
13	68	15	3	40—50 „
14	73	15	4	40 „
15	67	15	2	Keine Wirkung

Wir sehen also, daß die resorptionsfördernde Wirkung bei 3 γ pro g Frosch liegt, wogegen nach Verabreichung von 100—150 γ allein noch keine Schädigung bemerkbar ist. Diese resorptionsfördernde Wirkung ist durch Cholesterin hemmbar, wie folgende Versuche zeigen:

Versuch Nr.	Froschgewicht in g	Mischungen von Stearyl-Oleyl-Sapaminmalat mit Cholesterin 1 : 2 (in γ)	Curare in γ pro g Frosch	Lähmung
1	58	30— 60	15	Keine
2	63	40— 80	15	„
3	62	60—120	15	„
4	70	100—200	15	Starke Lähmung

Das Cholesterin vermag die 20fache Menge eines noch wirksamen Sapaminmalates aufzuheben.

Die Untersuchungen der permeabilitätssteigernden Wirkung auf die Froschhaut zeigen die folgenden Resultate:

Versuch Nr.	Papierfleck getränkt mit einer Lösung von: Strychn. nitr. %	Sapaminmalat %	Reflexerregbarkeit gesteigert nach	Krämpfe nach
1	0,3	1	20—25 Min.	35 Min.
2	0,3	1	25 „	35 „
3	0,3	1	25 „	35—40 „
4	0,3	—	40 „	105—110 „
5	0,3	—	35—40 „	100—105 „

Diese Aufstellung zeigt also, daß auch das Sapaminmalat imstande ist, die Permeabilität der Froschhaut — so wie dies bei den Saponinen der Fall ist — für Strychnin deutlich zu erhöhen. Durch den Einfluß des Stearyl. Sap. mal. wurde die bis zum Auftreten von Krämpfen verstreichende Zeit auf etwa ein Drittel verkürzt.

Der Fischindex beträgt 100000, ist also als sehr hoch zu bezeichnen.

Die Tropfenzahl wurde nur bei p_H 5,6 gemessen. Diesbezügliche Untersuchungen wurden mit dem Traubeschen Stalagnometer durchgeführt.

p_H	Konzentration des Sapaminmalates %	Normaltropfenzahl
5,6	0,1	206
5,6	1,0	118

Neben der hohen Normaltropfenzahl besitzt es ein starkes Schaumvermögen. Die Schaumzahl beträgt 1 : 10000.

Wie bei den Saponinen finden wir auch die Fähigkeit, feinverteilten Stoffen (Kohle) den Durchgang durch ein Filter zu erleichtern.

Daß die Substanz hydrotropisch wirkt, konnte an Sudan III und mit Cholesterin nachgewiesen werden. Mit letzterem entsteht auch noch in etwa 1%iger Lösung eine milchige Trübung.

Die Hefegärung wird durch das Sapaminmalat in folgender Weise beeinflußt:

Versuch Nr.	Die verwendete Menge von Sapaminmalat in mg%	Sichtlicher Anfang der Gärung nach	Gasproduktion nach 1 Std. in ccm
1	0,25	10 Min.	16
2	0,50	10 „	15
3	1,25	10 „	14,5
4	2,50	10 „	12
5	5,00	10 „	10
6	10,00	15 „	6
7	15,00	20 „	1
8	25,00	30—40 „	1/8
9	50,00	—	1/10
10	100,00	—	—
I	Wasser	10 Min.	14
II	„	10 „	15

Wir sehen, daß auch hier stark verdünnte Lösungen um 1 : 200000 fördernd auf die alkoholische Gärung wirken. Die totale Hemmung tritt bei einer Konzentration von 1 : 2000 ein. Bei allen genannten Sapaminen verläuft die Einwirkung auf die Gärungsprozesse praktisch gleich.

Die übrigen Sapaminsalze zeigen folgende Eigenschaften und Wirkungen:

Sapaminbenzoat.

Ist leicht löslich in 1%iger Lösung, hat $p_H = 5{,}8$, fällt mit Alkalien aus. Hämolytischer Index ist 30000 bei $p_H = 6$. Resorptionsfördernde Dosis: 3 -4 γ pro g Frosch in 45 Minuten. Die hämolytische wie die resorptionsfördernde Wirkung wird stark von Cholesterin beeinflußt. Die permeabilitätssteigernde und gärungshemmende Wirkung geht parallel mit der des Sapaminmalates. Schaumzahl: 1 : 10000.

Sapaminlactat.

Leicht löslich in Wasser. Eine 1%ige Lösung hat $p_H = 5{,}8$. Hämolytischer Index 30000, mit Alkalien fällt es aus. Alle untersuchten Eigenschaften sind ähnlich wie bei Sapaminbenzoat bzw. Sapaminmalat.

Sapaminsalicylat.

1%ige Verdünnung gibt eine $p_H = 5$. In allen ihren Eigenschaften, die hier untersucht wurden, ähnlich den oben genannten Sapaminen.

Sapamin M. S.

Es wurde von der Herstellerin eine 10%ige Lösung geliefert; sie ist klar gelb, dünnflüssig und stark schäumend. Die 1%ige Lösung hat ein $p_H = 5{,}6$, bleibt ständig klar. Die Substanz ist verwendbar in saurem und alkalischem Bereich. Wirkt stark hämolytisch. Der hämolytische Index bei p_H 6 = 25000, bei p_H 10 = 28000. Die kleinste resorptionsfördernde Dosis beträgt 6 γ, wobei in 50 Minuten die Lähmung eintritt. Durch Behandlung mit Cholesterin sinkt der hämolytische Index auf 750, mit ihm auch parallel die resorptionsfördernde Wirkung auf $^1/_{15}$. Die Mischung mit Cholesterin ist milchartig, nach 12 Stunden ist eine schwach milchartige Suspension mit wenig flockigem Niederschlag vorhanden. Schaumzahl 10000. Die permeabilitätssteigernde Wirkung ist gleich wie bei den anderen Sapaminen. Wirkt gärungshemmend, die Totalhemmung tritt bei der Konzentration 1 : 800 ein. Das Sapamin M. S. besitzt hydrotropische Eigenschaften.

Sapamin K. W.

Bei mikroskopischer Untersuchung unterscheidet man zwei kristallinische Substanzen. Die eine ist rotbraun und beginnt auf dem Mikroschmelzpunktapparat bei etwa 50° zu erweichen, die andere ist eine weißgelbliche Substanz und beginnt gegen 110° zu erweichen. Sapamin K. W. ist schwerlöslich in Wasser, beim Erwärmen löst es sich klar. Eine 1%ige Lösung besitzt ein p_H 5. Mit verdünnter Salzsäure erhält man nach einiger Zeit eine flockige Ausfällung, mit Natronlauge nicht. Hämolytischer Index bei p_H 6 = 45000, bei p_H 10 = 38000. Wirkt resorptionsfördernd. Die kleinste resorptionsfördernde Menge beträgt 5 γ pro g Frosch, wirksam in 50 Minuten. Die Mischung mit Cholesterin ist milchartig, nach 12stündigem Stehen ist sie auch noch trüb. Die hämolytische, wie auch die resorptionsfördernde Wirkung wird durch Cholesterin aufgehoben; der hämolytische Index sinkt auf 750. Die Schaumzahl ist 3000. Permeabilitätssteigernde Wirkung wie bei den anderen Sapaminen. Wirkt gärungshemmend, die totale Hemmung tritt bei etwa 1 : 1000 ein. Hydrotropische Eigenschaften vorhanden. Sapamin K. W. ist imstande, Cholesterin in wässerige Lösung zu bringen.

Invadine.

Invadine sind Textilhilfsmittel, Wasch- und Netzmittel.

Invadin C.

Kommt in feinpulverisierter Form in den Handel und ist hellgrau gefärbt, wirkt reizend auf die Nasenschleimhaut und ruft Niesen hervor. Leicht löslich in Wasser. Die 1%ige Lösung hat ein $p_H = 5{,}6$. Praktisch ist die Substanz verwendbar in saurem und alkalischem Medium, sie wirkt schwach hämolytisch. Hämolytischer Index bei 2500. Die Wasserstoff-

ionenkonzentration bewirkt keine Änderung des hämolytischen Index. Die Mischung mit Cholesterin ist anfänglich trüb weiß, nach 12 Stunden erhält man einen Niederschlag mit klarer überstehender Flüssigkeit. Die Lösung bleibt weiter stark schäumend — was bei den vorigen Subtanzen nicht der Fall ist —. Die hämolytische Wirkung wird durch Cholesterin nicht wesentlich beeinflußt. Schaumzahl 240. Der entstehende Schaum fällt rasch wieder zusammen. Praktisch beobachtet man keine resorptionsfördernde Wirkung. 400 γ pro g Frosch mit 15 γ Curare waren noch unwirksam. 1 : 150 wirkt auf die Gärung total hemmend, bis zu 1 : 400 wirkt es fördernd. Normaltropfenzahl 223 bei 1 %iger Lösung. Schwache, kaum bemerkbare hydrotropische Eigenschaft.

Invadin B.

Ein neues Netzmittel der „Ciba". Feines Pulver, leicht löslich in Wasser. Die 1 %ige Lösung zeigt eine Wasserstoffionenkonzentration von 5,2 und ist beständig gegen Salzsäure und Natronlauge. Hämolytischer Index ist 12000 bei p_H 6 und 10. Die Mischung mit Cholesterin gibt eine weiße Suspension, die nach 12stündigem Stehen einen flockigen Niederschlag gibt. Die Lösung bleibt weiter schäumend. Die hämolytische Wirkung wird durch Cholesterin nur wenig vermindert, Index 7000. Die Schaumzahl 830. Der Schaum fällt rasch zusammen. Die Resorptionsförderung ist sehr gering, die kleinste wirkende Dosis beträgt 200 γ. Im Verhältnis 1 : 1000 wirkt es gärungsfördernd und total hemmend bei 1 : 200. Mit schwacher hydrotropischer Eigenschaft. Normaltropfenzahl 209 in 1 %iger Lösung.

Ultravone.

Ultravone kommen in festem Zustand in den Handel. Sie werden verwendet in der Textilindustrie als Wasch- und Beuchtmittel.

Ultravon W.

Weißes Pulver, 1 %ige Lösung gibt ein $p_H = 6$. Praktisch verwendbar in saurem und alkalischem Bereich. Hämolytischer Index bei p_H 6 = 50000, bei p_H 10 = 65000. Die Mischung mit Cholesterin ist milchartig, nach 12 Stunden immer noch ein wenig trüb. Die hämolytische Wirkung wird durch Cholesterin stark gemindert und sinkt auf 1000. Die Schaumzahl ist 1650. Die kleinste Dosis, die noch resorptionsfördernd wirkt, ist 6 γ. Die Wirkung tritt in 50 Minuten ein. Auf den Gärungsprozeß wirkt die Substanz nur in höheren Konzentrationen hemmend. Zeichnet sich durch hydrotropische Eigenschaften aus.

Ultravon K.

Braungelbes Pulver. Ein Waschmittel von „Ciba" für die Textilindustrie. Beständig gegen Ätzalkalien, nicht gegen Säuren. Die 1 %ige Lösung weist eine Wasserstoffionenkonzentration von 6,2 auf. Hämolytischer Index bei p_H 6 = 25000, bei p_H 10 = 45000. Die hämolytische

Wirkung tritt rasch ein. Die Mischung mit Cholesterin bleibt milchartig trüb. Die hämolytische Wirkung sinkt nach der Mischung und zeigt 2500 hämolyt. Index. Die resorptionsfördernde Dosis ist 7 γ pro g Frosch. Lähmung in 1 Stunde. Schaumzahl 850. Auf die Gärung durch Hefe wirkt sie nur bei höheren Konzentrationen hemmend. Hydrotropische Eigenschaft vorhanden.

Ultravon F. H.

Ist ein weißes Pulver. Die 1‰ige Lösung zeigt eine Wasserstoffionenkonzentration von 6.2. Verwendbar in saurem und basischem Bereich. Hämolytischer Index bei p_H 6 = 15000, bei p_H 10 = 20000. Die hämolytische Wirkung tritt rasch ein. Die Cholesterinmischung ist trüb, milchartige Suspension. Der hämolytische Index sinkt nach Cholesterinbehandlung auf 1000 bei p_H = 10. Die resorptionsfördernde Dosis ist auch etwas niedriger. Die kleinste wirksame Dosis pro g Frosch beträgt 20 γ (Lähmung nach 1 Stunde). Schaumzahl 3500. Auf den Gärungsprozeß wirkt es stärker hemmend wie die vorigen Ultravone bei einer Verdünnung von 1 : 2000 beginnend. Schwache hydrotropische Wirkung.

Butylnaphthalinsulfosaures Natrium.

Die 1%ige Lösung mit p_H 4,2 ist klar. Hämolytischer Index bei p_H 6 = 7500, bei p_H 7,4 = 5500. Mit gewaschenem Rinderblut bei p_H 6 = 10500. 1 ccm 1%ige Lösung, gemischt mit Cholesterin, 0,04 g. Die Lösung wird trüb, aber nicht milchartig. Die hämolytische Wirkung wird kaum gemindert. Wirkt kaum resorptionsfördernd. 200 γ hatten nach 2 Stunden sehr schwache Wirkung. Die Schaumzahl 500, also recht gering. Der Schaum fällt rasch zusammen. Tropfenzahl bei verschiedenen Wasserstoffionenkonzentrationen ist gleich hoch, Normaltropfenzahl — 1%ige Lösung 233. Bis 1 : 2000 wirkt es auf die Hefegärung fördernd und von da an hemmend, totale Hemmung bei der Konzentration von 1 : 250. Wirkt hydrotropisch.

Methylnaphthalinsulfosaures Natrium.

Die 1%ige Lösung gibt eine Wasserstoffionenkonzentration von 3. Hämolytischer Index bei p_H 7,4 = 200, ebenso bei p_H 6. Gemischt mit Cholesterin keine Änderung. Praktisch keine Resorptionsförderung. Wirkt auf die Gärung schwach hemmend, mit kaum merklicher hydrotropischer Wirkung. Normaltropfenzahl bei 1%iger Lösung = 141.

Benzylnaphthalinsulfosaures Natrium.

1%ige Lösung hat p_H 4,8, hämolytischer Index bei p_H 7,4 = 1500. Gewaschene Blutkörperchen = 2000, mit Cholesterin gemischt, sinkt er etwas. Schaumzahl 400. Praktisch keine resorptionsfördernde Wirkung. Schwache Hemmung auf die Gärung durch Hefe. Mit kaum merklicher hydrotropischer Eigenschaft. Normaltropfenzahl 1%ige Lösung = 132.

Isopropylnaphthalinsulfosaures Natrium.

1%ige Lösung gibt ein $p_H = 5$. Hämolytischer Index bei p_H 7,4 = 4800, mit gewaschenem Rinderblut etwas höher. Die hämolytische Wirkung mit Cholesterin wird in geringem Maße aufgehoben. Schaumzahl 500. Keine resorptionsfördernde Wirkung. Normaltropfenzahl bei 1%iger Lösung = 209, mit hydrotropischer Eigenschaft.

Triäthanolamin.

Wurde auch als Emulgator, besonders für Campher verwendet. Dieser läßt sich nämlich durch Triäthanolaminoleat in eine konzentrierte Lösung bringen. Mit Hilfe einer äquivalenten Menge Ölsäure wurde Triäthanolaminoleat hergestellt. Triäthanolamin allein wirkt nicht hämolytisch.

Die 1%ige Lösung des Triäthanolaminoleats gibt eine milchartige Flüssigkeit. Eine Lösung mit niedrigerer Wasserstoffionenkonzentration bleibt weiter trüb, während bei p_H 10 die Lösung fast klar ist. Die hämolytische Wirkung mit Rinderblut bei verschiedener Wasserstoffionenkonzentration gibt folgende Resultate: bei p_H 10 = 33000, p_H 7,4 = 20000, p_H 6 = 16000. Nach dem Zumischen von Cholesterin 1 : 2 sinkt der hämolytische Index, bei p_H 10 auf 5000 ab. Die Mischung ist milchartig. Resorptionsförderung: Erst 80 γ pro g Frosch sind wirksam. Die Schaumzahl beträgt 500. Wirkt hydrotropisch.

Äthylendiamin.

Zur Verfügung stand uns eine 10%ige Lösung des Äthylendiamins, die eine farblose, leichtflüssige Substanz mit alkalischer Reaktion und allein hämolytisch unwirksam ist.

Es wurde eine äquivalente Menge von Äthylendiamin und Ölsäure abgewogen und so eine 1%ige Lösung hergestellt. Die Lösung wirkt alkalisch, hat ein $p_H = 9{,}8$, mit Alkalien ist sie beständig, mit Salzsäure entsteht eine Fällung; deswegen ist es nur bei niedriger Wasserstoffionenkonzentration möglich, den hämolytischen Index und die Schaumzahl zu bestimmen. Der hämolytische Index ist bei p_H 7,4 = 16000, bei p_H 9,8 = 33000. Mit gewaschenem Rinderblut 45000. Wird sie mit Cholesterin gemischt, so sinkt der hämolytische Index auf 5000. Wirkt wenig resorptionsfördernd, die kleinste wirksame Menge ist 80 γ pro g Frosch. Die Schaumzahl beläuft sich auf 500. Hat eine schwach hydrotropische Wirkung. Eine Wirkung auf die Gärung läßt sich nicht feststellen.

Viscum.

Schließlich wurde auch eine „saponinähnliche" Substanz aus Mistel (Viscum album) untersucht. Das Material verarbeiteten wir nach Angabe von Winterfeld (8). Der Eisessigauszug aus der trockenen gepulverten Droge wurde mit getrocknetem Aceton gefällt. Die mit Aceton gewaschene und getrocknete Fällung wurde in Wasser gelöst und filtriert, das Filtrat nach einer alkoholischen Cholesterinzugabe wieder filtriert und das Filtrat

in der Kälte eingeengt. Die getrocknete Substanz wurde in wenig Eisessig aufgenommen, mit wasserfreiem Aceton ausgefällt und mit Aceton weiter gereinigt, bis man eine ganz essigsäurefreie Substanz erhält; dies konnten wir auch erreichen, wenn wir die Substanz in wenig Wasser lösten und mit Propylalkohol fällten.

Die so gewonnene, nach Winterfeld als „herzwirksam" bezeichnete Substanz ist hellgelb, fast nicht hygroskopisch, leicht löslich in Wasser; die 1%ige Lösung hat eine Wasserstoffionenkonzentration von $p_H = 6$. Eine Substanz mit solchen Eigenschaften wurde aus Misteln verschiedener Herkunft erhalten. Nach Angabe von Winterfeld (8) soll sie einen hämolytischen Index von 1800 haben. Demzufolge wurde sie auch auf die sonstigen saponinähnlichen Eigenschaften untersucht. Aber beim ersten Versuch mußten wir feststellen, daß die charakteristische Wirkung der Saponine, die Hämolyse, fehlt. Der hämolytische Index liegt weit unter 40, die Substanz ist also praktisch unwirksam. Auch bei Verwendung von Hunde-, Ratten-, Rinder-, Katzen- und Kaninchenblut konnte keine Hämolysewirkung beobachtet werden. Selbst in der empfindlichen Blutgelatine war nur eine ganz geringe Wirkung zu beobachten, der praktisch keine Bedeutung zukommt.

Bei Versuchen an Fröschen mußten wir feststellen, daß die Giftigkeit dieser Substanz sehr hoch ist: etwa 25 γ pro g Frosch wirken schon tödlich. Die Magenschleimhaut zeigt bei dieser Dosis deutliche Schwellung und Blutaustritte. Bei Versuchen mit gleichzeitiger Verabreichung von Curare wurden bei 5 γ noch Lähmungserscheinungen beobachtet. Da noch bei Dosen von 10 γ ohne Curare wohl keine Todesfälle, jedoch noch Schwellung der Schleimhaut festzustellen ist, kann mit Sicherheit angenommen werden, daß die bei 5 γ Eingabe mit Curare beobachtete Lähmung in einer zeitweisen Schädigung der Schleimhaut ihre Ursache hat. Da wir als resorptionsfördernd nur solche Substanzen bezeichnen, bei denen ein kleiner Bruchteil einer noch völlig unschädlichen Dosis zusammen mit Curare lähmend wirkt, kann bei diesem Stoff aus der Mistel nicht von einer Resorptionsförderung gesprochen werden.

Nach peroraler Eingabe wirkt die Substanz bei Mäusen relativ schwach, es sind hierbei 150 γ pro g Maus tödlich. Bei intravenöser Injektion hingegen war bereits 1 γ tödlich, $^1/_2\,\gamma$ wurde noch vertragen (Mittel aus mehreren Versuchen). Die Resorbierbarkeit vom Magen-Darm-Trakt aus scheint also beim Warmblüter gering zu sein. Die starke Giftigkeit bei parenteraler Einverleibung ist bedingt durch die herztoxische Wirkung, die diesen Mistelstoffen in hohem Maße eigen ist [Jarisch (9)].

Die Normaltropfenzahl ist niedrig, bei einer 1%igen Lösung 110. Wirkt nicht hydrotropisch. Die Mischung mit Cholesterin ist nicht milchartig. Die oben erwähnte „resorptionsfördernde" Wirkung wird von Cholesterin nicht aufgehoben. Fischindex = 12000. Die Substanz wirkt noch in Mengen von 10 γ bei subcutaner Injektion am Kaninchenohr entzündungserregend.

Auch die nach Winterfeld aus der Mistel durch Fällung mit Cholesterin hergestellte, angeblich nur „blutdrucksenkende" Substanz wirkte nicht hämolytisch. Es dürfte sich hier nicht um einen zweiten, differenten Körper, sondern um einen Teil der oben beschriebenen „herzwirksamen" handeln, der sich neben anderen Stoffen in geringer Menge an das ausfallende Cholesterin adsorbiert hat und der dann im Tierversuch durch die eingetretene Verdünnung mehr blutdrucksenkend als herzwirksam erscheint, da der Tod (Herztod) des Tieres nicht oder viel später eintritt.

An dieser Stelle mag auch erwähnt werden, daß eine Anzahl von sogenannten Saponinen, die in letzter Zeit in mehr oder weniger reinem Zustande aus Drogen dargestellt wurden, wie z. B. das Equisetonin, Violasaponin, das Saponin von Leonurus cardiaca u. a. eigentlich nicht mehr unter die Saponine im engeren Sinne zu rechnen sind, da ihnen, abgesehen vom niedrigen, oft kaum feststellbaren Index die resorptionsfördernde Wirkung und die Fähigkeit, sich an Cholesterin aus wässeriger Lösung zu binden, fehlt. Der Nachweis mit Kapillaranalyse gelingt nicht. Auch die Hämolysewirkung wird durch Cholesterin wenig beeinflußt.

Ergebnisse.

Alle hier untersuchten Substanzen hämolysieren, zeigen eine Erhöhung der Normaltropfenzahl und besitzen hydrotropische Wirkung bzw. Lösungsfähigkeit für Cholesterin, einzelne jedoch nur in geringem Maße; mit Rücksicht auf die Bindung an Cholesterin und die Resorptionsförderung läßt sich eine Einteilung dieser Verbindungen wie folgt durchführen:

I. Wird die an sich meist schwache Hämolysewirkung durch Cholesterin wenig beeinflußt, so fehlt meist eine resorptionsfördernde Wirkung, wenn auch Cholesterin in etwa 0,2%ige wässerige Lösung gebracht wird. Gemische von Lösungen dieser Körper mit Cholesterin geben eine klare, obenstehende Flüssigkeit und einen flockigen Niederschlag, also keine Emulsion. Hierher gehören: Invadine, Naphthalinsulfosäurederivate Abietinsäure und Glycyrrhizin (und schließlich auch Seife).

II. Es folgen dann Substanzen, deren Hämolysewirkung von Cholesterin etwas mehr, bis gegen 50% herabgemindert wird, die schwach resorptionsfördernd wirken, die Cholesterin in wässerige Lösung zu bringen oder zu binden vermögen: Es sind dies Triäthanolamin, Äthylendiaminoleat. Hierher gehört auch das Guajacsaponin, das wegen seiner geringen hämolytischen und resorptionsfördernden Wirkung bereits als physiologisch sehr wenig wirksames Saponin bezeichnet wird.

III. Die Hämolysewirkung (hämolyt. Index über 20000) wird durch Cholesterin stark beeinflußt, der Index sinkt hierbei meist unter 10%. Die resorptionsfördernde Wirkung ist stark, ebenso die Permeabilitätserhöhung für Strychnin an der Froschhaut, und man beobachtet ein deutliches Lösungsvermögen für Cholesterin in wässeriger Phase und eine starke emulgierende Wirkung: Agaricin-, Lichesterinsäure, Zephirol,

Sapamine, Ultravone, Cholestenonsulfosäure. Dazu ist zu bemerken, daß Zephirol noch in hohen Verdünnungen (1 : 2000) total hemmend auf die Gärung wirkt. Aus der starken Hemmbarkeit der Hämolysewirkung durch Cholesterin kann daher auf Resorptionsförderung geschlossen werden.

Was nun im allgemeinen die Bindung von Saponinen und saponinähnlichen Stoffen an Cholesterin betrifft, so können wir drei Fälle unterscheiden:

a) Mit Cholesterin entsteht ein schwerlöslicher Niederschlag, unlöslich in Alkohol und Wasser. Dieser Fall kommt nur bei einigen Saponinen, wie Digitonin, Cyclamin u. a. in Frage.

b) Cholesterin entfernt aus wässeriger Lösung bei geeigneter Versuchsanordnung das Saponin ganz oder zum Teil, indem es eine in Wasser unlösliche Verbindung eingeht. Beim Nachweis von Saponin mit der Kapillaranalyse (siehe S. 475) wird das Saponin an der Cholesterinschranke zurückgehalten. Die meisten Saponine lassen sich auf diesem Wege aus wässerigen Lösungen nachweisen, wobei jedoch zu beachten ist, daß auch einzelne Saponine Cholesterin in wässerige Lösung zu bringen vermögen.

c) Cholesterin geht eine lockere Bindung mit dem Saponin oder dem saponinähnlichen Körper ein oder wird von ihm zumindest in wässerige Lösung gebracht. Mit Rücksicht auf die Löslichkeit der saponinähnlichen Substanzen in Äther kann der Nachweis der Bindung nicht in der bei Punkt b) erwähnten Weise erfolgen. Hierher gehören einige Saponine (Teile des Saponin Merck, das Guajacsaponin) und die unter I. und III. obengenannten Substanzen, die saponinähnlichen Charakter haben. Es ist hierzu allerdings zu bemerken, daß nur bei den Substanzen der Gruppe III und eventuell bei II, die eine durch Cholesterin hemmbare Hämolyse, dementsprechend auch Resorptionsförderung zeigen, von einer Bindung an Cholesterin gesprochen werden kann, während die Substanzen der Gruppe I lediglich eine Lösungsfähigkeit für Cholesterin besitzen, wodurch wohl die Hämolysewirkung und hydrotropische Wirkung bedingt ist. Die Resorptionsförderung fehlt hier jedoch. Bei diesen Wirkungen auf biologisches Material handelt es sich bekanntlich um eine Störung des Gleichgewichtes an der Grenzfläche Wasser-Lipoid bzw. in den Zellen, die mit der Flüssigkeit in Berührung kommen, und zwar dadurch, daß das für die Funktion der Membran so wichtige Cholesterin gebunden oder herausgelöst wird.

Literatur.

1) Fischer, R., u. D. Toth: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **190**, 5 (1938). — 2) Domagk, G.: Derm. Wschr. **107**, Nr. 27 (1938). — 3) Kofler, L., u. R. Fischer: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **116**, 35 (1936). — 4) Roberg, M.: Ebenda **188**, 360 (1937). — 5) Hadjioloff: Naturw. **1937**, S. 762. — 6) Schoeller u. M. Gehrke: Biochem. Z. **172**, 358 (1926). — 7) Kofler, L., R. Fischer u. H. Newesely: Arch. Pharmaz. usw. **267**, 685 (1929). — 8) Winterfeld, K.: Sc. Pharmaceutica (Beilage der Wiener pharmaz. Wschr.) **9**. 105 (1938), Heft 10. — 9) Jarisch, A.: Klin. Wschr. **18**, 145 (1939), Heft 5.

Aus dem Pharmakologischen Institut Bonn.

Die Beeinflussung der Hyperthyreose männlicher und weiblicher Ratten durch Kastration und große Follikelhormonmengen.

Von

H. Zain.

(Eingegangen am 29. März 1939.)

Daß ungesättigte Fettsäuren bei der Ratte die experimentell erzeugte Hyperthyreose zu bessern vermögen, konnte in früheren Arbeiten[1] gezeigt werden. Eine vergleichende Untersuchung ungesättigter Fettsäuren der C_{18}-Reihe — der Öl-, Linol- und Linolensäure —, Fettsäuren, die auch im tierischen und menschlichen Organismus vorkommen, ergab, daß die antithyreotoxische Kraft dieser ungesättigten Fettsäuren von der Anzahl ihrer Doppelbindungen abhing. Die Ölsäure war schwach wirksam, die Linolsäure mit zwei Doppelbindungen, sowie ein Gemisch aus Linol- und Linolensäure — wie es in der Leinölsäure vorliegt — erwiesen sich am wirksamsten. Reine Linolensäure (drei Doppelbindungen) wurde von der Ratte schlecht vertragen, sie entfaltete erst nach der Veresterung ihre antithyreotoxische Kraft. Diese Versuche zeigten weiter, daß sich weibliche und männliche hyperthyreotische Ratten diesen ungesättigten Fettsäuren gegenüber verschieden verhielten. Bei weiblichen Ratten wurde nicht nur der durch die Schilddrüsenfütterung bedingte Gewichtsverlust durch diese ungesättigten Fettsäuren vermindert bzw. aufgehoben, sondern auch die Leber behielt je nach der verfütterten Fettsäure mehr oder weniger ihre Fähigkeit, aus Zucker Glykogen zu bilden und abzulagern. Bei männlichen hyperthyreotischen Ratten dagegen verringerten diese ungesättigten Fettsäuren nur die Gewichtsabnahme. Die Bildung von Glykogen in der Leber blieb gestört. Männliche und weibliche hpyerthyreotische Ratten reagierten im Glykogenstoffwechsel der Leber auf ungesättigte Fettsäuren verschieden.

Zur Klärung dieses Verhaltens wurden männliche Ratten kastriert und ein Teil der Tiere, um ihren Stoffwechsel — wenn möglich — dem der weiblichen Ratte noch mehr anzugleichen, mit Follikelhormon behandelt. Das Resultat dieser Versuche war, daß durch die Kastration die durch die Hyperthyreose gestörte Glykogenbildung in der Leber der männlichen Ratte durch ungesättigte Fettsäuren wieder hergestellt wurde. Weiter zeigte sich, daß Follikelhormon allein in Mengen von 1000 I.B.E. pro Tag in Form des Progynon' B oleos., auf die Hyperthyreose kastrierter männlicher

[1] Zain: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **187**, 289, 302 (1937); **189**, 433 (1938).

Ratten eine antithyreoide Wirkung hatte. Diese Ergebnisse lenkten die Aufmerksamkeit auf die Beziehungen der Schilddrüse zu den Sexualhormonen.

In einer früheren Mitteilung[2] wurde bereits auf die Beziehungen Sexualhormon-Hypophyse-Schilddrüse kurz eingegangen und ein differentes Verhalten der Follikelhormone auf die Hyperthyreose männlicher und weiblicher kastrierter Ratten beschrieben. Es fiel auf, daß die Hypophyse männlicher und weiblicher kastrierter hyperthyreotischer Ratten auf dieselbe Progynonmenge verschieden reagierte.

Über die Wechselwirkung Schilddrüse-Follikelhormon unter Einbeziehung der Hypophyse ist viel gearbeitet worden. Die erzielten Ergebnisse sind teils wiedersprechend. Auf eine Wiedergabe der diesbezüglichen Literatur sei hier verzichtet[3]. Im folgenden sind Versuche zusammengefaßt, die einen Beitrag zur Wirkung hoher Dosen von Follikelhormon auf die experimentell erzeugte Hyperthyreose der normalen und kastrierten weiblichen wie männlichen Ratte liefern sollen.

Methodik.

Die Versuchsanordnung lehnt sich eng an frühere Arbeiten über die Beeinflussung der Hyperthyreose der Ratte durch ungesättigte Fettsäuren an.

Als Kriterium des Grades der Hyperthyreose diente die der Leber noch verbliebene Fähigkeit, aus Zucker Glykogen zu bilden und abzulagern, die in Fällen ausgesprochener Hyperthyreose völlig aufgehoben ist. Weiter konnte der Gewichtsverlust der Tiere als Kriterium der Stoffwechselsteigerung herangezogen werden, da nur gleichgeschlechtliche Tiere aus demselben Wurf, die täglich dieselbe Menge Brot und Milch erhielten und denselben äußeren Bedingungen unterworfen waren, miteinander verglichen wurden. Das Alter der Tiere schwankte zwischen 4 und 8 Monaten.

Das Follikelhormon wurde in Form des Progynon B oleos.[4] (Oestradiolmonobenzoat 1 ccm = 10000 I.B.E.) intramuskulär gegeben. Die Behandlung mit Progynon setzte eine Woche vor der Schilddrüsenfütterung ein. Wann und wieviel Progynon gegeben wurde, das Alter der Tiere sowie der Zeitpunkt der Kastration ist aus den Tabellen zu entnehmen. In jedem Falle wurde kontrolliert, daß beide Ovarien vollständig entfernt waren. Die kastrierten Ratten wurden erst nach völliger Abheilung der Operationswunden in den Versuch genommen und frühestens 14 Tage nach der Operation mit Progynon behandelt. Alle Tiere wurden während des Versuchs möglichst bei konstanter Temperatur (19—20° C) gehalten. Die Schilddrüsenfütterung von täglich 100 mg Gland. thyreoidea siccata Merck währte 7 Tage, eine Zeit, die zur Ausbildung einer Hyperthyreose ausreicht. Am 8. Tage erhielten die Ratten nach 16stündigem Hungern je nach Gewicht 2,5—3 g Zucker per os und wurden 7 Stunden später getötet. Sofort nachdem die Tiere ausgeblutet waren, wurde die Leber gewogen und ihr Glykogengehalt nach Pflüger ermittelt. Das Körpergewicht zu Beginn und am Ende des Versuchs entspricht dem Nüchterngewicht.

---

[2] Zain: Klin. Wschr. **39**, 1351 (1937). — [3] Siehe hierzu Bomskov: Methodik der Hormonforschung, Bd. 2. Leipzig, Thieme, 1939. — [4] Das Progynon stellte die Firma Schering, Berlin, freundlichst zur Verfügung.

Die Hypophyse wurde nach Bestimmung ihres Gewichts zusammen mit der Schilddrüse zur histologischen Untersuchung weiterverarbeitet[5]. Alle Ratten stammten aus eigener Zucht. Die jeweils zu einem Wurf gehörenden Tiere sind in den Tabellen zusammengefaßt. Die weiblichen Ratten hatten nicht geworfen.

Versuche.

Weibliche Ratten.

Alle in den Tabellen aufgeführten Ratten haben 7 Tage lang täglich 100 mg gland. thyreoid. Merck per os erhalten. Normale weibliche Ratten im Alter von 5—8 Monaten verlieren durch die so erzeugte Hyperthyreose bei durchschnittlichem Körpergewicht von 194 g und einer Futtermenge von 10 g Brot, 2 g Möhren und 20 ccm Milch täglich im Mittel 12,5% ihres Gewichts. Die Glykogenbildung in der Leber ist völlig gestört. Die Leber wiegt im Mittel 5,8 g, die Hypophyse 7 mg (s. Tabelle 3).

Werden weibliche Ratten kastriert und wird 4 bzw. 7 Wochen später der Einfluß derselben Schilddrüsenmenge (7mal 100 mg) untersucht, so ist die Gewichtsabnahme im Mittel 9%. Die durch die Hyperthyreose bedingte Gewichtsabnahme wird durch die Kastration demnach nicht gesteigert, sondern gemildert. Die Glykogenbildung in der Leber bleibt gestört. Unter Berücksichtigung des Körpergewichtes weicht das Leber- und das Hypophysengewicht[6] nicht merklich von der Norm ab. Histologisch boten die Hypophysen das Bild der Kastrationshypophyse, die bei der Ratte leicht an dem Auftreten typischer Kastrationszellen — Zellen, die einige Wochen nach der Kastration vereinzelt und später in größerer Anzahl auftreten[7] — erkennbar ist. Nur in wenigen Fällen war eine Kastrationsschilddrüse, wie sie Schultze[8] beschreibt, hier angedeutet.

Werden normale und kastrierte weibliche Ratten mit Progynon 14 Tage behandelt, und wird die letzten 7 Tage wiederum die gleiche Schilddrüsenmenge verabfolgt, so wirkt sich Progynon auf die Hyperthyreose folgendermaßen aus: Bei der nicht kastrierten weiblichen Ratte, die 13000 E. Progynon insgesamt erhielt, ist die Zunahme des Hypophysengewichts auf im Mittel 14,8 mg, also auf annähernd das Doppelte des Ausgangsgewichts, auffällig. Das Lebergewicht ist ebenfalls gegen die Norm mit 7,8 g im Durchschnitt erhöht (s. Tabelle 3). Die durch die Hyperthyreose gestörte Glykogenbildung in der Leber ist weitgehend wieder hergestellt. Der Glykogengehalt der Leber beträgt durchschnittlich 2%. Bei der prozentualen Abnahme des Körpergewichts — im Mittel 10% gegen 12,5% der Vergleichstiere — ist zu berücksichtigen, daß die mit Progynon behandelten weiblichen Ratten schlecht fraßen (Futterreste s. Tabelle 1). Es ergibt sich, daß das Progynon auch die durch die Hyperthyreose bedingte Gewichtsabnahme abschwächt, mithin stoffwechselsenkend wirkt und deutlich die Glykogenbildung in der Leber bessert.

Histologisch wies die Hypophyse einen stark vergrößerten Vorderlappen auf. Die durch Follikelhormon in der Rattenhypophyse auftretenden Veränderungen sind von Wolfe[9], Cramer und Horning[10], sowie Gardner[11] und Mitarbeitern

[5] Die histologischen Untersuchungen erfolgten gemeinsam mit Herrn Dr. Knoche. — [6] In der Literatur ist beschrieben, daß das Hypophysengewicht nach der Kastration ansteigt. Hier lag die Kastration wohl noch nicht lange genug zurück, um zu einer Gewichtszunahme der Hypophyse zu führen. — [7] Die durch die Kastration gegen die Norm veränderte Zahl und Beschaffenheit der einzelnen Zellelemente des Hypophysenvorderlappens der Ratte ist häufig Gegenstand histologischer Untersuchungen gewesen. Näheres Bomskov: Methodik der Hormonforschung, Bd. 2, S. 601. — [8] Schultze: Arch. Gynäk. **158**, 754 (1934). — [9] Wolfe: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **30**, 1092 (1933). — [10] Cramer u. Horning: Lancet **1936**, S. 247. — [11] Gardner, Strong u. Smith: Amer. J. Canc. **15**, 1387 (1931).

Tabelle 1.

Nr.	Alter und Geschlecht	Körpergewicht in g zu Beginn des Versuchs	Körpergewicht in g am Ende des Versuchs	Progynon B oleos. in 14 Tagen insgesamt * ccm	Schilddrüsenpulver per os 100 mg täglich Tage	Brot und Milch täglich	Lebergewicht in g	Hypophysengewicht in mg	Leberglykogen in g%	Anmerkung
	gsb. 11. III.	29. VII.	4. VIII.							
1	♀	185	160	1,3[1]	7	10 g Brot 20 ccm Milch	6,8	11	3,1	Brotreste insgesamt 27 g Milchreste insgesamt 10 ccm
2	♂	270	230	1,3	7	Dasselbe	7,5	15	0,86	Tier fraß gut
3	♂	305	245	1,3	7	„	6,9	15	0,57	„ „ „
4	♂	285	232	1,1[2]	7	„	7,1	11	1,76	Brotreste insgesamt 22 g
	geb. 16. III.									
5	♂	268	220	1,1	7	„	7,2	11	1,56	Tier fraß gut
6	♂	268	217	1,1	7	„	5,9	9,5	0	„ „ „
7	♂	270	228	—	7	„	5,8	9	0	„ „ „
	geb. 11. IV.	22. VIII.	29. VIII.							
8	♂	198	170	1,3[1]	7	„	5,5	8,5	0	Milchreste insgesamt 35 ccm
9	♂	226	195	1,3	7	„	6,0	10	0,8	Tier fraß gut
	geb. 16. III.									
10	♀	175	163	1,3	—	„	6,0	14,5	3,56	Brotreste insgesamt 16 g
11	♀	215	195	1,3	7	„	8,0	18	1,4	„ „ 12 g
12	♀	188	175	1,3	7	„	7,5	17	2,1	„ „ 11 g
13	♀	188	166	1,3	7	„	9,0**	12,5	1,78	„ „ 14 g Milchreste „ 16 ccm
14	♀	208	186	1,3	7	„	8,0	16	1,8	Brotreste insgesamt 15 g Milchreste „ 22 ccm

* Die Progynonbehandlung setzte 1 Woche vor Beginn der Schilddrüsenfütterung ein.

** Tier nicht völlig ausgeblutet.

[1] Ratten 1, 2, 3, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 erhielten am 1. Versuchstage 0,4 ccm, am 4. Versuchstage 0,3 ccm, am 8., 10., 12. Versuchstage je 0,2 ccm Progynon B oleos. (1 ccm = 10 000 I.B.E.) intramuskulär.

[2] Ratten 4, 5, 6 erhielten am 1., 4., 6., 8., 10. Versuchstage je 0,2 ccm, am 12. Versuchstage 0,1 ccm Progynon intramuskulär.

Tabelle 2.

Nr.	Alter und Geschlecht	Kastriert am	Körpergewicht in g zu Beginn des Versuchs	Körpergewicht in g am Ende des Versuchs	Progynon B oleos. in 14 Tagen insgesamt* ccm	Schilddrüsenpulver per os 100 mg täglich Tage	Brot und Milch täglich	Lebergewicht in g	Hypophysengewicht in mg	Leberglykogen in g%	Anmerkung
15	geb. 24. IV. ♀	15. X.	1. XII. 216	8. XII. 182	1,4[1]	7	10 g Brot, 20 ccm Milch	7,5	19	0,48	Brotreste insgesamt 15 g
16	♀	15. X.	228	212	1,4	7	Dasselbe	8,5	26	0,22	„ „ 6 g
17	♀	15. X.	222	190	1,4	7	„	7,9	19	0,9	„ „ 8 g
18	♀	15. X.	208	184	1,4	7	„	7,8	19	0,69	Ratte fraß gut
19	♀	15. X.	30. XI. 232	7. XII. 216	—	7	„	6,6	9	0,1	„ „ „
20	♀	15. X.	244	220	—	7	„	6,9	8	0	„ „ „
21	♀	15. X.	238	220	—	7	„	7,0	8	0,1	„ „ „
22	geb. 5. III. ♀	9. VI.	2. VII. 168	9. VII. 152	1,0[2]	7	„	7,8	19,5	1,1	Ratte fraß gut
23	♀	9. VI.	168	152	1,0	7	„	6,3	15	0,49	„ „ „
24	♀	9. VI.	182	174	1,0	7	„	7,2	9,5	0	„ „ „
25	♀	9. VI.	168	153	1,0	7	„	7,2	13,5	1,03	„ „ „
26	♀	9. VI.	185	172	—	7	„	6,0	6,5	0	„ „ „
27	♀	9. VI.	30. VI. 166	6. VII. 144	—	7	„	4,4	6,5	0	„ „ „
28	♀	19. V.	196	176	—	7	„	6,0	6,5	0	„ „ „
29	geb. 21. III. ♂	19. V.	194	164	1,4[1]	7	„	6,2	9	2,51	Ratte fraß gut
30	♂	19. V.	190	166	1,4	7	„	6,4	9,5	2,1	„ „ „
31	geb. 5. II. ♂	19. V.	178	154	1,4	7	„	6,2	9	2,2	„ „ „
32	♂	19. V.	182	169	1,4	7	„	6,5	9	1,86	„ „ „
33	♂	19. V.	190	160	1,4	7	„	6,3	9	2,68	„ „ „
34	geb. 21. III. ♂	19. V.	188	162	—	7	„	5,4	6,5	0	Hypophyse verletzt
35	geb. 5. II. ♂	19. V.	194	176	—	7	„	5,4	7	0	„ „
36	♂	19. V.	184	170	—	7	„	5,4	7	0,2	„ „

* Die Progynonbehandlung setzte 1 Woche vor Beginn der Schilddrüsenfütterung ein.

[1] Ratten 15, 16, 17, 18, 29, 30, 31, 32, 33 erhielten am 1. und 4. Versuchstage je 0,4 ccm, am 8., 10., 12. Versuchstage je 0,2 ccm Progynon B oleos. (1 ccm = 10 000 I.B.E.) intramuskulär. — [2] Ratten 22, 23, 24, 25 erhielten am 1., 3., 6., 8., 10. Versuchstage je 0,2 ccm Progynon B oleos. intramuskulär.

Tabelle 3. Mittelwerte nach 7tägiger Schilddrüsenfütterung (täglich 100 mg Gland. thyreoid. Merck).

	Körpergewichtsabnahme	Mittleres Lebergewicht g	Mittleres Hypophysengewicht mg	Mittlerer Glykogengehalt der Leber g%	Anmerkung
Normale ♀ Ratte ..	(194 g) **12,5 %**	5,8	7	**0**	Mittelwerte von 12 Tieren derselben Zucht
Normale ♀ Ratte behandelt mit Progynon 13 000 E...	(197 g) ~ **10 %**	7,8	14,8	**2,03**	Ratten fraßen schlecht
Kastrierte ♀ Ratte	(238 g) **8 %**	6,8	8,3	**0,07**	
	(182 g) **10 %**	5,4	6,5	**0**	
Kastrierte ♀ Ratte behandelt mit Progynon 14 000 E...	(218 g) **12 %**	7,9	21,7	**0,57**	Tiere fraßen nicht alles Brot
10 000 E...	(171 g) **8 %**	7,1	14,3	**0,65**	
Normale ♂ Ratten .	(200 g) **17 %**	5,8	6,5—7	**0**	Mittelwerte von 15 Tieren derselben Zucht
Normale ♂ Ratten behandelt mit Progynon 13 000 E...	(250 g) **16 %**	6,5	12,1	**0,56**	Bei den Leber- und Hypophysengewichten ist das Körpergewicht zu berücksichtigen
11 000 E...	(273 g) **18,5 %**	6,7	10,5	**1,13**	
Kastrierte ♂ Ratten	(189 g) **10 %**	5,4	6,8	**0**	
Kastrierte ♂ Ratten behandelt mit Progynon 14 000 E...	(187 g) **12,8 %**	6,3	9,1	**2,27**	

näher beschrieben. Zu berücksichtigen ist, daß eine Hyperthyreose wie in vorliegenden Fällen ihrerseits Einfluß auf die histologische Beschaffenheit der Hypophyse nimmt[12]. Am deutlichsten war hier, ohne auf Änderungen der Zahl und Struktur der chromophilen Zellelemente einzugehen, die Vermehrung chromophober Zellelemente ausgeprägt, die in Größe und Färbbarkeit den Schwangerschaftszellen ähneln. Ausgesprochene Ruheschilddrüsen[13], wie sie bei nicht hyperthyreotischen weiblichen Ratten von Grumbrecht und Loeser[14] nach Follikelhormonbehandlung beschrieben sind, wurden nicht gefunden, jedoch war in einer Anzahl Fälle eine Abnahme der Aktivität angedeutet.

Anders wirkt sich das Progynon auf die Hyperthyreose der kastrierten weiblichen Ratte aus. 14000 Einheiten Progynon innerhalb 14 Tagen intramuskulär gegeben führten bei dem hier untersuchten Wurf zu einem Anwachsen des Hypophysengewichts auf 19 mg, in einem Falle sogar auf 26 mg. Wieder ist auch bei den kastrierten hyperthyreotischen Ratten das Lebergewicht im Mittel mit 7,8 g erhöht.

[12] Severinghaus: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **3**, 1125 (1934). — [13] Da anzunehmen ist, daß eine zusätzliche Schilddrüsenfütterung die Schilddrüse selbst nicht aktiviert, sondern eher ruhig stellt, ist die hier vorliegende Differenz vielleicht dadurch zu erklären, daß die Ratten während des Versuchs bei einer Temperatur von 19—20° C gehalten wurden. — [14] Grumbrecht u. Loeser: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **189**, 345 (1938).

Der Glykogengehalt der Leber beträgt durchschnittlich nur 0,5%. Die prozentuale Abnahme des Körpergewichts 12% gegen 8% der kastrierten Vergleichstiere (Futterreste zu berücksichtigen, s. Tabelle 2).

In einer zweiten Serie wurden geringere Progynonmengen, insgesamt 10000 Einheiten innerhalb 14 Tagen gegeben. Ohne eine wesentliche Besserung der Glykogenbildung in der Leber zu erzielen (0,65%), betrug bei einem Körpergewicht von 171 g im Mittel die prozentuale Gewichtsabnahme 8% gegen 10% der kastrierten Vergleichstiere. Das Lebergewicht war mit 7,1 g gegen 5,7 g, das Hypophysengewicht mit 14,3 mg gegen 6,5 mg der Vergleichstiere erhöht. Die erste Serie etwa 8 Monate alte Tiere wurde 7 Wochen, die zweite etwa 4 Monate alte Tiere 4 Wochen nach der Kastration getötet.

Die Hypophysen der mit 14000 Einheiten Progynon behandelten weiblichen kastrierten Ratten erwiesen sich noch schwammiger und weicher als die Hypophysen der mit Progynon behandelten normalen weiblichen Tiere. Histologisch erschien der stark vergrößerte Vorderlappen der Hypophyse hyperämisch und die Struktur aufgelockert, im übrigen ähnelte das Bild in der Zellzusammensetzung dem der Hypophyse normaler mit Progynon behandelter weiblicher Ratten. Kastrationszellen waren nicht mehr nachweisbar.

Männliche Ratten.

Die in den Tabellen wiedergegebenen (s. Tabelle 3) Werte normaler männlicher Ratten, die 7 Tage lang täglich 100 mg Gland. thyreoid. Merck neben 10 g Brot, 2 g Möhren und 20 ccm Milch erhielten, zeigen, daß der Gewichtsverlust bei durchschnittlich 200 g schweren 5—6 Monate alten Tieren 17%, das Lebergewicht 5,8 g, das Hypophysengewicht 6,5—7 mg im Mittel beträgt. Die Leber hat die Fähigkeit, aus Zucker Glykogen zu bilden, völlig verloren.

Werden normale männliche Ratten 14 Tage lang mit Progynonmengen von insgesamt 13000 bzw. 11000 I.B.E. behandelt, so ist ein Einfluß dieser Progynonbehandlung auf die durch die Hyperthyreose bedingte Gewichtsabnahme nicht vorhanden (16 bzw. 18,5% gegen 17% der Vergleichstiere). Die mittleren Hypophysengewichte betragen 12,1 mg bei männlichen Ratten, die mit 13000 E. Progynon behandelt wurden. Dabei weisen zwei etwa 300 g schwere, 5 Monate alte Tiere Hypophysen von 15 mg auf, während die Hypophysen der etwa 200 g wiegenden Ratten 8,5 bzw. 10 mg schwer sind. Berücksichtigt man, daß das Körpergewicht der 2. Serie männlicher Ratten die 11000 E. Progynon erhielt, durchschnittlich 273 g beträgt, so ist die Zunahme des Hypophysengewichts im Mittel auf 10,5 mg bei diesen Tieren verhältnismäßig gering. Bei den Lebergewichten, die annähernd normal sein dürften, ist ebenfalls das durchschnittlich höhere Körpergewicht der hier benutzten Tiere in Rechnung zu setzen. Die in der Leber gefundenen Glykogenmengen von 0,56% bzw. 1,13% im Mittel sprechen für eine gewisse, wenn auch schwache antithyreotoxische Wirkung des Progynons auch bei der hyperthyreotischen männlichen Ratte.

Im histologischen Bild des Hypophysenvorderlappens herrschen auch bei den mit Follikelhormon behandelten männlichen Ratten den Schwangerschaftszellen ähnliche Zellelemente vor, jedoch erscheint ihre Anzahl geringer als im Hypophysenvorderlappen der entsprechend behandelten weiblichen Tiere. Die Schilddrüse zeigt das Bild der aktiven Drüse.

Die Kastration der männlichen Ratte hat auf den gesteigerten hyperthyreotischen Stoffwechsel einen deutlichen Einfluß. Etwa 6 Wochen nach der Kastration in den Versuch genommene Tiere zeigen nach 7tägiger Schilddrüsendarreichung (100 mg täglich) eine durchschnittliche Gewichtsabnahme von 10% gegen 17% der Vergleichstiere. Die Glykogenbildung in der Leber bleibt gestört. Das Lebergewicht sowie das Hypophysengewicht, 6,8 mg im Mittel, entspricht dem nicht

kastrierter männlicher Vergleichsratten[15]. Der Hypophysenvorderlappen weist histologisch vereinzelt die für die Kastration charakteristischen Kastrationszellen auf. Die eosinophilen Zellen sind etwas zahlreicher vertreten als im Hypophysenvorderlappen kastrierter weiblicher Ratten. In keinem Falle wurde bei der Untersuchung der Schilddrüsen eine Ruheschilddrüse gefunden.

Progynon in einer Menge von 14000 I.B.E. innerhalb 14 Tagen kastrierten männlichen Ratten intramuskulär gegeben, beeinflußt in erster Linie die durch die Hyperthyreose gestörte Glykogenbildung der Leber. Mit 2,27% Glykogen im Mittel ist die Glykogenbildung weitgehend wiederhergestellt. Die mittlere Gewichtsabnahme beläuft sich auf 12,8%, während der Gewichtsverlust der entsprechenden kastrierten männlichen Ratten, die nicht mit Progynon behandelt wurden, 10% beträgt. Das Lebergewicht hat bei einem Körpergewicht von durchschnittlich 187 g mit 6.3 g im Mittel etwas zugenommen, desgleichen ist das Hypophysengewicht mit 9.1 mg leicht erhöht. Das Bild des Hypophysenvorderlappens der mit Progynon behandelten kastrierten männlichen Ratten entspricht im wesentlichen dem der mit entsprechenden Progynondosen behandelten normalen männlichen Ratten. Kastrationszellen sind nicht mehr nachweisbar. Ruheschilddrüsen wurden in keinem Falle gefunden.

Da schon in früheren Versuchen[16] mit kastrierten männlichen Ratten die durch die Hyperthyreose gestörte Glykogenbildung in der Leber sich durch Follikelhormon in obigen Dosen wesentlich bessern ließ, sind weitere Serien kastrierter männlicher Ratten nicht untersucht worden.

Besprechung.

Aus obigen Versuchen geht hervor, daß große Follikelhormonmengen (Progynon 1000 E. pro Tag) eine experimentell erzeugte Hyperthyreose der weiblichen Ratte zu bessern vermögen. Die Gewichtsabnahmen werden geringer, der Stoffwechsel wird also gesenkt und die Glykogenbildung in der Leber weitgehend wiederhergestellt.

Diese Resultate stimmen überein mit den Ergebnissen Gesslers[17] u. a., die im Gasstoffwechselversuch zeigen konnten, daß durch Follikelhormon die durch Schilddrüsenfütterung erzeugte Stoffwechselsteigerung des weiblichen Meerschweinchens gesenkt wird. Zu ähnlichen Ergebnissen an nicht hyperthyreotischen Ratten kamen Grumbrecht und Loeser[18]. Progynon (1000 E. tgl.) senkt auch den Stoffwechsel der normalen weiblichen Ratte. Die Vermutung, daß die antithyreoide Wirkung des Follikelhormons über die Hypophyse zustande kommt, wurde von verschiedenen Seiten[19] geäußert. Grumbrecht und Loeser erbrachten den Beweis, daß bei der normalen weiblichen Ratte durch große Progynonmengen (1000 E. pro Tag) der Gehalt der Hypophyse an thyreotropem Hormon abnimmt. Bei der normalen weiblichen Ratte läßt sich eine Ruheschilddrüse durch obige Progynonmengen erzeugen.

Neben der erheblichen Gewichtszunahme der Hypophyse, speziell des Vorderlappens, steigt nach vorliegenden Versuchen auch das Lebergewicht

[15] Siehe hierzu Anm. 22, S. 495. — [16] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **189**, 433 (1938). — [17] Gessler: Arch. internat. Pharmacodynam. **54**, 263 (1936); Sherwood u. Mitarbeiter: Amer. J. Physiol. **105**, 241 (1933); **115**, 645 (1936). — [18] Grumbrecht u. Loeser: siehe oben. — [19] Gessler: siehe oben; Zain: siehe oben.

unter Einfluß des Follikelhormons an. Nach Rupp[20] ist der Fettgehalt der Leber nach Behandlung mit Follikelhormon nicht erhöht.

Werden weibliche Ratten kastriert, so scheint der Fortfall der Sexualhormone die stoffwechselsteigernde Wirkung einer zusätzlichen Schilddrüsenfütterung zu mildern. Im Vergleich zum stoffwechselsenkenden Einfluß, den die Kastration auf die Hyperthyreose der männlichen Ratte besitzt (s. später), ist die Wirkung der Kastration auf den hyperthyreotischen Stoffwechsel der weiblichen Ratte jedoch geringer. Die Glykogenbildung in der Leber wird auch bei den kastrierten Tieren durch die Schilddrüsenfütterung aufgehoben.

Follikelhormonmengen, die auf die Hyperthyreose der normalen weiblichen Ratte antithyreoidal wirken, sind auf die Hyperthyreose der kastrierten weiblichen Ratte nur noch wenig wirksam. Ein stoffwechselsenkender Effekt durch die Progynonbehandlung (14000 I.B.E. innerhalb 14 Tagen) ist nicht erkennbar. Die Gewichtsverluste sind durchschnittlich höher als bei den nicht mit Progynon behandelten Vergleichstieren. Die Glykogenwerte in der Leber deuten dagegen eine geringe Besserung der durch die Hyperthyreose gestörten Glykogensynthese an. Auch hier ist das durchschnittliche Lebergewicht wieder erhöht.

Grumbrecht und Loeser fanden bei kastrierten weiblichen nicht hyperthyreotischen Ratten nach Follikelhormonmengen, die den hier gegebenen entsprachen, wie bei normalen entsprechend behandelten weiblichen Tieren eine Abnahme der Hypophyse an thyreotropem Hormon. Danach war zu vermuten, daß auch bei der kastrierten weiblichen Ratte die Hyperthyreose durch obige Progynonmengen gebessert wurde.

Wenn hier nach der Kastration der weiblichen Ratte die antithyreoide Wirkung des Progynons nur noch schwach vorhanden war, könnte hierfür im folgenden eine Erklärung gegeben sein.

Grumbrecht und Loeser fanden bei normalen wie kastrierten weiblichen Ratten nach 14tägiger Behandlung mit tgl. 1000 E. Progynon Hypophysengewichte von 15 mg bzw. 14,3 mg im Mittel. In vorliegenden Versuchen betrugen bei entsprechender Progynonbehandlung die hier ermittelten Hypophysengewichte bei kastrierten weiblichen hyperthyreotischen Ratten (Körpergewicht 218 g) 21,7 mg im Mittel, während auch hier bei normalen weiblichen hyperthyreotischen[21] Ratten (Gewicht 197 g) nach 13000 E. Progynon ein durchschnittliches Hypophysengewicht von 14,8 mg gefunden wurde.

Ob für das nach der Kastration durch das Follikelhormon bedingte noch stärkere Anwachsen des Hypophysengewichtes das Alter der Tiere, der Zeitpunkt der Kastration, oder die Zeitspanne zwischen Kastration und Follikelhormonbehandlung von Bedeutung ist, bleibt zu klären.

---

[20] Rupp: Arch. Gynäk. **165**, 272 (1937). — [21] Nach van Horn sollen hyperthyreotische Ratten gegen Follikelhormon weniger empfindlich sein als normale. van Horn: Endokrinologie **17**, 152 (1933).

Am wahrscheinlichsten ist, daß nach Fortfall der Ovarien bei nicht mehr intaktem Genitalsystem die Hypophyse der hyperthyreotischen weiblichen Ratte auf hohe Progynondosen stärker reagiert als die Hypophyse des normalen weiblichen Tieres[22]. Es liegt nun nahe anzunehmen, daß bei einer stetigen Vergrößerung und Beschaffenheit des Hypophysenvorderlappens wie in vorliegenden Versuchen, von einer gewissen Grenze ab seine Funktion in Mitleidenschaft gezogen wird. Daß durch längere Darreichung von Follikelhormon die verschiedensten Funktionen des Vorderlappens (Wachstumshormon, gonadotrope Hormone, diabetogenes Hormon u. a.) gehemmt werden können, ist von Spencer, Halpern und Korenschevsky beobachtet. Durch eine Funktionsschädigung des Hypophysenvorderlappens ließe sich so die Abnahme der antithyreoidalen Wirkung großer Follikelhormonmengen bei der kastrierten weiblichen Ratte erklären.

Wurden geringere Mengen Progynon (insgesamt 10000 I.B.E.) verabfolgt, so war die Vergrößerung der Hypophyse und die prozentuale Gewichtsabnahme schon geringer, ohne daß jedoch die Glykogenbildung in der Leber eine weitere Besserung erfuhr.

Dieselben Versuche mit männlichen Ratten hatten folgendes Ergebnis. Es sei hier mit den Folgen der Kastration auf die experimentell erzeugte Hyperthyreose begonnen.

Aus den Versuchsdaten geht hervor, daß die stoffwechselsteigernde Wirkung einer bestimmten Schilddrüsenmenge nach der Kastration geringer ist. Der Fortfall der männlichen Sexualhormone schwächt die Hyperthyreose ab. Die Glykogenbildung in der Leber bleibt aber gestört. Diese, anders ausgedrückt, den hyperthyreotischen Stoffwechsel aktivierende Komponente der männlichen Sexualhormone wurde in Gasstoffwechselversuchen an der Maus auch von Schoeller und Gehrke[23] nachgewiesen: Dieselbe Thyroxinmenge führte bei der kastrierten männlichen Maus zu einer geringeren Stoffwechselsteigerung als bei dem normalen männlichen Tier, während sich ein derartig unterschiedliches Verhalten bei normalen und kastrierten weiblichen Mäusen nicht zeigte. Dem Wesen nach also dasselbe Verhalten wie bei der Ratte, nur mit dem graduellen Unterschied, daß nach der Kastration der weiblichen Ratte bereits eine Abnahme der stoffwechselsteigernden Schilddrüsenwirkung sich zeigt, die jedoch beim kastrierten männlichen Tier viel stärker zum Ausdruck kommt (s. oben).

Aus obigen Daten geht hervor, daß große Progynonmengen bei dem normalen weiblichen Tier antithyreoidal wirken. Wie verhält sich nun

---

[22] Von allen Organen scheint die Leber allein das Hormon zu zerstören. Bei der Ratte tritt oral oder subcutan zugeführtes Hormon nicht in den Harn über (Zondek: Klin. Wschr. **1930**, S. 245). Ob bei der kastrierten Ratte eine Verzögerung der Inaktivierung des Follikelhormons vorliegt, bleibt zu prüfen. — [23] Schoeller u. Gehrke: Klin. Wschr. **41**, 1938 (1927).

Progynon in großen Dosen auf die Hyperthyreose der männlichen Ratte? Die durch die Schilddrüsenfütterung bedingten Gewichtsabnahmen werden bei männlichen Ratten durch Progynon nicht verändert, eine Senkung des gesteigerten Stoffwechsels wie bei der weiblichen Ratte tritt beim männlichen Tier nicht ein.

Dagegen ist ein gewisser antithyreotoxischer Effekt des Progynons auf die durch die Hyperthyreose gestörte Glykogenbildung in der Leber erkennbar, die gefundenen Glykogenwerte sind jedoch erheblich niedriger als die entsprechenden Werte beim weiblichen Tier.

In der Literatur liegen einige Versuche über die Wirkung des Follikelhormons auf den Gasstoffwechsel des normalen männlichen Meerschweinchens[24] vor. Ein deutlicher Einfluß wurde auch hier nicht gefunden. Die in vorliegender Arbeit gemachten Beobachtungen an hyperthyreotischen Tieren lassen erkennen, daß das Follikelhormon im männlichen Organismus den durch die Hyperthyreose gesteigerten Stoffwechsel nicht zu senken vermag, hier wirkt ihm die den hyperthyreotischen Stoffwechsel aktivierende Komponente des männlichen Sexualhormons entgegen.

Wenn diese Annahme richtig ist, so müßte nach der Kastration der männlichen Ratte die antithyreoidale Komponente des Follikelhormons sich durchsetzen. Aufs erste sprechen die Versuchsergebnisse mit kastrierten männlichen Ratten in diesem Sinne. Die Glykogenbildung in der Leber kastrierter männlicher Ratten, die 7 Tage lang täglich 100 mg Gland. thyreoid. Merck erhalten haben, wird durch Progynon (insgesamt 13000 E. innerhalb von 14 Tagen) fast völlig wieder hergestellt. Weiter sind auch die Gewichtsabnahmen, die bei der normalen männlichen Ratte durch die Schilddrüsenfütterung durchschnittlich 17 % betragen, auf 12,8 % gesunken. Zu berücksichtigen ist jedoch, daß durch die Kastration der männlichen Ratte schon eine erhebliche Senkung des hyperthyreotischen Stoffwechsels eintritt, so daß hier aus der Minderung der Gewichtsabnahmen kastrierter männlicher Tiere keine Schlüsse auf einen den hyperthyreotischen Stoffwechsel senkenden Einfluß des Follikelhormons gezogen werden können.

Wie kommt nun die Wirkung des Progynons auf die Hyperthyreose der männlichen Ratte zustande? Auffällig ist, daß die Hypophyse männlicher normaler und kastrierter mit Schilddrüse behandelter Ratten auf Follikelhormon nicht so stark reagiert wie die Hypophyse entsprechend behandelter weiblicher Tiere.

Bei normalen männlichen Tieren beobachtete Selye[25] nach großen Follikelhormonmengen nach einigen Tagen Hypertrophie der Hypophyse und sekundär eine Vergrößerung der Nebennierenrinde, während beide Organe bei weiblichen Tieren nach entsprechender Behandlung kleiner

---

[24] Grumbrecht u. Loeser sowie Gessler: siehe oben. — [25] Selye: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **32**, 1377 (1935), zitiert nach Bomskov.

waren als der Norm entsprach. Zondek[26] fand nach chronischer Zufuhr von Follikelhormon bei gleichzeitiger Atrophie der Keimdrüsen eine Vergrößerung der Hypophyse nur bei männlichen Ratten, während bei weiblichen diese Vergrößerung meist fehlte. Desgleichen wurden Hypophysentumoren vorwiegend bei männlichen Ratten nach chronischer Follikelhormonzufuhr beobachtet. Diese von Selye und Zondek an normalen Ratten gewonnenen Versuchsergebnisse unterscheiden sich demnach von den hier gewonnenen Ergebnissen. Denn die bei männlichen normalen und kastrierten hyperthyreotischen Ratten mit zwei Ausnahmen gefundenen Gewichtszunahmen der Hypophyse nach Follikelhormonbehandlung sind bedeutend geringer als bei den entsprechend behandelten weiblichen Ratten. Zu berücksichtigen ist weiter, daß auch das Gewicht der Leber männlicher hyperthyreotischer Ratten nach Progynonbehandlung weniger ansteigt, als das Gewicht der Leber der in der gleichen Weise behandelten weiblichen Tiere. Dies erscheint um so bemerkenswerter, als nach Zondek die Leber das einzige Organ ist, das imstande ist, das Follikelhormon zu inaktivieren.

Wurde bei der normalen weiblichen Ratte sowohl die durch die Hyperthyreose gestörte Glykogenbildung als auch der gesteigerte Stoffwechsel gesenkt, war die Wirkung des Follikelhormons also eine über die Hypophyse zustandekommende antithyreoidale, so wurde bei der kastrierten männlichen Ratte ein die Glykogenbildung in der Leber bessernder Einfluß erkannt, jedoch ein gleichzeitig den Stoffwechsel senkender Einfluß nicht klar erfaßt. Es ist daher die Frage offen, ob auch bei der männlichen Ratte das Follikelhormon die Produktion des thyreotropen Hormons in der Hypophyse herabzusetzen vermag und mithin antithyreoidal wirksam ist, oder ob es sich um eine antithyreotoxische[27] Wirkung des Follikelhormons im Organismus der männlichen Ratte handelt, durch die nur das eine oder andere Symptom der Hyperthyreose gebessert wird.

Um hier eine Klärung zu bringen, soll der Gehalt der männlichen Hypophyse an thyreotropem Hormon nach Follikelhormonbehandlung ermittelt werden.

Zusammenfassung.

Zur Erfassung des Einflusses, den Kastration und große Follikelhormondosen auf die experimentell erzeugte Hyperthyreose männlicher und weiblicher Ratten haben, diente die Besserung der gestörten Glykogenbildung in der Leber sowie die Stoffwechselgröße der Tiere.

1. In Übereinstimmung mit der auch von anderer Seite mittels Gasstoffwechselversuchs an hyperthyreotischen weiblichen Meerschweinchen und normalen weiblichen Ratten gewonnenen Ergebnissen wurde auch hier

[26] Zondek: Lancet **1936**, S. 776. — [27] Litzka: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **183**, 436 (1936); Zain: Ebenda **187**, 289 (1937).

ein Stoffwechsel senkender und die Glykogenbildung in der Leber bessernder Einfluß großer Progynonmengen (tgl. 1000 I.B.E. 14 Tage lang) bei der weiblichen hyperthyreotischen Ratte erkannt.

2. Wurden kastrierte weibliche Ratten mit der gleichen Schilddrüsenmenge behandelt wie normale weibliche Tiere, so war die Gewichtsabnahme etwas geringer als bei den Normaltieren. Die Glykogenbildung in der Leber war bei den kastrierten wie normalen weiblichen hyperthyreotischen Ratten völlig gestört.

3. Bei kastrierten weiblichen hyperthyreotischen Ratten war Progynon in den gleichen Dosen gegeben, nur noch schwach antithyreoidal wirksam. Eine Erklärung hierfür wird in einer Funktionsschädigung des Hypophysenvorderlappens gesucht.

4. Normale männliche Ratten, die in derselben Weise mit Schilddrüse behandelt wurden, zeigten nach Progynon in obigen Dosen keine Änderung ihres gesteigerten Stoffwechsels. Die Gewichtsabnahmen waren dieselben wie bei den nicht mit Progynon behandelten Vergleichstieren. Die Glykogenbildung in der Leber wies eine geringe Besserung auf.

5. Der Stoffwechsel kastrierter männlicher Ratten wird durch Schilddrüse erheblich weniger gesteigert als der Stoffwechsel der normalen männlichen Ratte. Im Vergleich zur kastrierten weiblichen Ratte kommt die Abnahme der stoffwechselsteigernden Schilddrüsenwirkung bei der kastrierten männlichen Ratte viel stärker zum Ausdruck. Eine Erklärung hierfür ist in dem Fortfall einer den hyperthyreotischen Stoffwechsel aktivierenden Komponente der männlichen Sexualhormone zu suchen, die ihrerseits bei der normalen männlichen Ratte die antithyreoidale Wirkung des Follikelhormons abschwächen dürfte. Die Glykogenbildung in der Leber kastrierter männlicher Ratten wird durch Schilddrüsenfütterung in derselben Weise geschädigt wie bei der normalen männlichen Ratte.

6. Bei kastrierten hyperthyreotischen männlichen Ratten ist Follikelhormon in obigen Dosen imstande, die Glykogenbildung in der Leber fast völlig wiederherzustellen. Ein gleichzeitig den Stoffwechsel senkender Einfluß läßt sich jedoch nicht klar fassen, so daß die Frage vorerst offen ist, ob bei der männlichen Ratte das Follikelhormon über die Hypophyse durch Einschränkung der Bildung von thyreotropem Hormon, wie es bei dem weiblichen Tier nachgewiesen ist, wirksam ist.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Köln.
(Direktor: Prof. Dr. J. Schüller.)

Digitaliskumulation und Herzleistung.

(Vergleichende Untersuchungen an Katzen und Hunden über die Nachwirkungen kleiner, wiederholt verabreichter Digitoxindosen.)

Von

Fritz Hahn.

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 15. April 1939.)

Der entscheidende Wandel, der sich in den letzten Jahren in der Frage der Digitaliskumulation vollzogen hat, geht bekanntlich auf eine Revision des alten Hatcherversuchs[1] und der daraus gezogenen Schlußfolgerungen zurück. Die Nachprüfungen an der Katze ergaben, daß die nach einmaligen hohen Digitoxindosen (0,2 mg/kg) Tage und Wochen anhaltende erhöhte Ansprechbarkeit des Herzens für zusätzlich zugeführtes Glykosid nicht auf einer Glykosidspeicherung beruht, sondern der Ausdruck einer Sensibilisierung des Herzens durch anatomische Schädigungen ist (Bauer und Fromherz[2, 3], Büchner[4]).

Seitdem sind zahlreiche neuere Untersuchungen bekanntgeworden, die sich um eine Klärung der Kumulationsfrage bemühen. Am vordringlichsten wurde die Frage nach der wirklichen Verweildauer der Glykoside im Herzen. Da die Auffüllmethode zu ihrer Beantwortung als ungeeignet erkannt war, mußten neue Wege eingeschlagen werden. Lendle[5] baute ein Verfahren zur Bestimmung der Eliminationsgeschwindigkeit bei konstanter langsamer Glykosidinfusion aus und ermittelte 0,003 mg/kg/Std. Digitoxin als die für die Katze geltende Eliminationsgröße. Weese und Dieckhoff[6] schlugen eine funktionelle Methode vor. Sie ersetzten in der Hatchermethode die Nachtitration durch eine zu verschiedenen Zeiten danach vorgenommene Leistungsprüfung der Herzen im Herzlungenpräparat. Sie fanden nach 0,2 mg/kg Digitoxin eine Abnahme der absoluten Herzkraft (entsprechend der anatomischen Schädigung) und nach 0,1 mg/kg Digitoxin für zwei Tage eine Erhöhung der Herzleistung, die auf „Kumulation der Substanz" bezogen wird. 0,1 mg Digitoxin würde danach von 1 kg Katze in etwa 3 Tagen unwirksam gemacht. Das

[1] Hatcher, R. A.: Arch. int. Med. (Am.) **10**, 268 (1912). — [2] Bauer, H., u. K. Fromherz: Klin. Wschr. **1933**, S. 973. — [3] Bauer, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **172**, 699 (1933); **176**, 65, 74 (1934). — [4] Büchner, F.: Ebenda **176**, 59 (1934). — [5] Lendle, L.: Ebenda **180**, 518 (1936). — [6] Weese, H., u. J. Dieckhoff: Ebenda **176**, 274 (1934).

würde auf einen etwas langsameren Entgiftungsprozeß hindeuten als es nach Lendle der Fall zu sein scheint. Doch ist dieser Unterschied jedenfalls insofern nicht wesentlich, als hinsichtlich der Ablehnung der Hatcherschen Theorie, die eine sehr viel längere Glykosidspeicherung annahm, Übereinstimmung herrscht und das Erscheinungsbild der Kumulation nicht mehr oder nicht mehr so sehr als „Kumulation der Substanz", sondern als „Kumulation der Wirkung" betrachtet wird.

Die neuen Erkenntnisse hatten zunächst nur Gültigkeit für die Wirkung einmaliger oder wiederholter sehr hoher Digitoxingaben. Das Studium der Kumulation im Bereich niedriger Dosierung war daher besonders im Hinblick auf das klinische Problem der Kumulation — auf Grund der neuen Sachlage eine weitere wichtige Aufgabe geworden. Ihr hat sich zuerst Lendle[5] unterzogen. Um die Kumulation im Bereich niedriger Dosen zu erfassen, wurde in der Hatchermethode die einmalige hohe Vordosis durch wiederholte kleine Dosen ersetzt. Es ist nun immerhin bemerkenswert, daß auf diese Weise noch mit täglichen subcutanen Gaben von 0,009 mg/kg Digitoxin (= 3 % der subcutan letalen Dosis) kumulative Wirkungen nachgewiesen wurden. Besonders bedeutsam war aber die Feststellung der überadditiven Wirkung dieser kleinen Dosen (die bei der Nachtitration ermittelten „Kumulationsreste" waren größer als die Summe der vorverabreichten Gesamtdosen). Damit war auch etwas über den Mechanismus der Kumulation gesagt: sie konnte im Sinne der neuen Auffassungen nicht oder nicht ausschließlich auf Kumulation der Substanz beruhen.

Lendle setzt daher die Wirkung kleiner Dosen in Beziehung zu der Wirkung großer Dosen, wenn er als wahrscheinlichste Ursache der kumulativen Wirkung kleiner Dosen ebenfalls Schädigungen annimmt. Er mußte freilich feststellen, daß zu dem Zeitpunkt, an dem er seine Herzen untersuchte, diese Schädigungen histologisch nicht nachzuweisen waren.

Lendle stützt sich also lediglich auf die Ergebnisse der Nachtitration. Es schien uns daher von Interesse, zu erfahren, wie sich solche mit kleinen Digitoxindosen vorbehandelte Herzen verhalten, wenn sie nicht nur in bezug auf ihre Glykosidempfindlichkeit, sondern auch funktionell, d. h. hinsichtlich ihrer Leistungsfähigkeit geprüft werden. Wir wollten uns dadurch einen Einblick darüber verschaffen, welche Wirkungen der kleinen, wiederholt verabreichten Digitoxindosen an der Leistungsfähigkeit der Herzen zu erfassen seien, ob leistungssteigernde oder schädigende, ähnlich wie in den Versuchen von Weese und Dieckhoff mit großen Dosen. Es war der gegebene Weg, hierbei auf das Verfahren von Weese und Dieckhoff zurückzugreifen, deren Erfahrungen mit großen Dosen dann direkt mit unseren verglichen werden konnten.

Der angedeutete Querschnitt durch das Kumulationsproblem leitet sich ausschließlich aus Versuchen an der Katze ab, die bekanntlich am stärksten „kumuliert". Um jedoch zu vermeiden, daß die einseitige Be-

vorzugung der Katze zu einer experimentellen Kumulationslehre führt, die auf einem möglicherweise reinen Katzenphänomen gegründet ist, müssen auch andere Tierarten berücksichtigt werden. Diese Forderung fällt besonders ins Gewicht, wenn wir noch einmal an die klinische Bedeutung der Kumulationsfrage erinnern, da wir keineswegs sicher wissen, ob der Mensch wie die Katze reagiert. Insbesondere Lendle[5] hat daher schon den Hund als Vergleichstier für den Menschen in Betracht gezogen, eine Annahme, die gelegentlich persönlicher Unterhaltung auch Weese besonders befürwortet hat. Eine Stellungnahme zu dieser Frage setzt aber eine Vertiefung unserer Kenntnisse über die Kumulation beim Hunde voraus.

Hatcher[1] fand, daß beim Hund von 95% der letalen Digitoxindosis nach 4 Tagen alle Nachwirkungen verschwunden sind. Die neueren Kumulationsversuche von Wallace und van Dyke[7], sowie Li und van Dyke[8] mit wiederholten hohen Digitalisdosen (25% und mehr der letalen Dosis) bis zum Auftreten einer tödlichen Wirkung bestätigen die geringere Kumulationsneigung des Hundes im Vergleich zur Katze. Daß jedoch auch beim Hund die „Kumulation der Wirkung" eine Rolle spielt, ergeben die Versuche von Hu, Lieu und Li[9], die auch im vergifteten Herzen des Hundes Nekrosen fanden. Genaue Bestimmungen der Eliminationsgeschwindigkeit liegen jedoch nicht vor. Sie mußten also nachgeholt werden.

Im Rahmen der eigenen Versuche war indessen vor allem die Möglichkeit einer Kumulation im Bereich niedriger Dosen zu prüfen und die Art der funktionellen Beeinflussung des Herzzustandes durch eine solche Vorbehandlung festzustellen.

Wir haben daher im Anschluß an die Katzenversuche Parallelversuche am Hunde ausgeführt. In beiden Versuchsgruppen wurde zunächst mit der Auffüllmethode die kumulative Wirkung einer bestimmten, über längere Zeit täglich einmal verabreichten kleinen Digitoxindosis gemessen. Dann wurde in einer zweiten Versuchsserie nach gleicher Vorbehandlung der Funktionszustand des Herzens durch Druckbelastungsversuche im Herzlungenpräparat ermittelt. An den Hunden wurden schließlich noch Eliminationsbestimmungen vorgenommen.

I. Kumulationsversuche an der Katze.

a) Vorbemerkungen.

Wir benutzten für unsere Versuche Digitoxin „Merck". Mit diesem Präparat ermittelten wir an 12 Katzen eine subcutan letale Dosis von etwa 0,33 mg/kg (Tod am ersten Tage). Als tägliche Einzelgabe für die Kumulationsexperimente wählten wir 0,017 mg/kg Digitoxin = 5% der letalen Dosis. Diese gaben wir subcutan 4—9 Tage lang.

[7] Wallace, E. W., u. H. B. van Dyke: J. Pharmacol. (Am.) **48**, 430 (1933). — [8] Li, R. C., u. H. B. van Dyke: Ebenda **54**, 415 (1935). — [9] Hu, C. H., V. T. Lieu u. R. C. Li: Chin. med. J., Suppl. I, S. 31—42 (1936).

Es wurden stets Tiere in den Versuch genommen, die erst wenige Tage im Stall waren, weil sich bei zu langem Stallaufenthalt die Bedingungen für das Herzlungenpräparat verschlechtern (Lungenödem!). Die Tiere mußten gesund aussehen und gut fressen. Zum Aufenthalt diente ein großer Stall mit einem Auslaufkäfig. Das Gewicht der Tiere lag zwischen 2000 und 3000 g.

Die Beobachtung des Allgemeinverhaltens bestätigte die Angaben Lendles über Abnahme der Freßlust und Gewichtsabnahme der Tiere unter der Wirkung der fortgesetzten Digitoxinzufuhr. Doch waren die Symptome nicht immer stark ausgeprägt und konnten auch völlig fehlen. Erbrechen sahen wir nur ausnahmsweise. Tödliche Wirkung, die mit einiger Wahrscheinlichkeit auf die Digitalisvergiftung zurückzuführen war, war ebenfalls eine Seltenheit. Lendle sah dies ja auch erst (bei allerdings durchweg kürzerer Dauer der Vorbehandlung) mit Dosen von 0,025 mg/kg an. Überwiegend war die Störung des Allgemeinbefindens nur mäßig. Es bestehen jedoch große Schwankungen in der individuellen Empfindlichkeit, deren Bedeutung für die Kumulation erst neuerdings Bauer und Reindell[10] zum Gegenstand einer besonderen Analyse gemacht haben.

b) Ergebnisse der Nachtitration mit Strophanthin.

Die Prüfung der Glykosidempfindlichkeit nach der wiederholten Digitoxinzufuhr erfolgte jeweils am Tage nach der letzten Injektion durch Nachinfusion mit g-Strophanthin. Zur Berechnung wurde das Endgewicht zugrundegelegt. Die Ergebnisse zeigt die Tabelle 1.

Tabelle 1. Strophanthintiter nach täglichen Injektionen von 0,017 mg/kg Digitoxin bei der Katze.

Nr.	Anfangsgewicht g	Endgewicht g	Geschlecht	Herzgewicht g	Dauer der Vorbehandlung Tage	Störung im Allgemeinzustand	g-Strophanthintiter mg/kg
1	2510	2310	♀	10,3	4	+	**0,046**
2	2050	1980	♀	7,6	4	+	**0,057**
3	2650	2330	♀	10,9	4	+	**0,068**
4	2300	2115	♀	10,9	4	?	**0,089**
5	2385	2200	♀	10,3	4	?	**0,102**
6	2595	2285	♀	9,1	5	+	**0,065**
7	2100	1845	♀	8,1	6	+	**0,044**
8	2780	2480	♂	9,8	6	+/++	**0,053**
9	2415	1980	♀	9,8	7	+?	**0,048**
10	2160	1855	♀	7,4	8	+/++	**0,038**
11	2720	2630	♂	12,0	8	+	**0,071**
12	2320	2300	♂	10,2	8	?	**0,073**
13	2630	2320	♂	8,5	8	?	**0,079**
14	2640	2510	♀	10,5	8	?	**0,101**
15	2370	1865	♀	10,0	8	+/++	**0,143**
					Normaler Strophanthintiter (8 Versuche):		**0,105** (0,091–0,118)

[10] Bauer, H., u. H. Reindell: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **190**, 461 (1938).

Aus der Tabelle geht hervor, daß eindeutig in den meisten Fällen bei den vorbehandelten Katzen die letale Strophanthindosis erniedrigt ist. In 12 von 15 Versuchen liegen die tödlichen Dosen zwischen 0,038 und 0,089 mg kg, während die normalen Werte zwischen 0,091 und 0,118 schwanken (Mittelwert 0,105 mg/kg).

Rechnet man den Kumulationsrest, d. h. den Abstand der tödlichen Strophanthindosis vom normalen Mittelwert, ferner die Summe der vorverabreichten Digitoxindosen in Prozent der letalen Dosis um, so stehen Vordosis und Kumulationsrest in den einzelnen Versuchen in einem Verhältnis zueinander, das die Abb. 1 veranschaulicht.

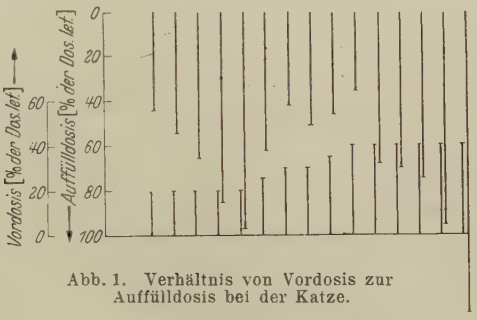


Abb. 1. Verhältnis von Vordosis zur Auffülldosis bei der Katze.

Hier bestätigt sich die von Lendle gefundene überadditive Wirkung der kleinen Digitoxindosen. Denn in mehr als der Hälfte dieser Versuche würden die gesamten verabreichten Glykosiddosen einschließlich der nachinfundierten Strophanthinmenge zur Herbeiführung einer tödlichen Wirkung im akuten Versuch nicht ausreichen.

Auffallend ist in der Tabelle wie in der Abb. 1, wo die Katzen nach der Dauer der Vorbehandlung geordnet sind, daß die Kumulationsreste nicht deutlich mit der Zahl der Vorinjektionen ansteigen. Offenbar wird diese Beziehung aber nur verdeckt durch die starke Streuung der Einzelversuche, zumal gerade bei den am längsten vorbehandelten Katzen einige besonders unempfindliche waren. Die im Allgemeinverhalten der Tiere schon beobachteten Empfindlichkeitsschwankungen finden sich also auch bei der Nachtitration wieder. Jedoch besteht dabei kein strenger Parallelismus. Besonders auffallend ist der hohe Strophanthinwert in Versuch 15. Hier war während der Nachinfusion eine auffallende Bradycardie festzustellen, eine Beobachtung, auf die auch Bauer schon hingewiesen hat.

Das Gesamtergebnis hat erwiesen, daß schon Gaben von 5% der letalen Dosis hinreichen, um bei 4—8maliger Wiederholung zu Kumulationserscheinungen zu führen. Unser Dosierungsschema konnte daher als Grundlage für die geplanten funktionellen Untersuchungen dienen.

c) Prüfung der Herzen im Herzlungenpräparat.

Katzen, die mit täglichen Digitoxininjektionen von 0,017 mg/kg Digitoxin 4—9mal vergiftet waren, wurden am Tage nach der letzten

Injektion zum Herzlungenpräparat verwandt. Zur Kontrolle dienten Normaltiere, die nicht länger als 8 Tage im Stalle gehalten waren.

Narkose mit Urethan (1,3 g/kg 90 Min. vorher subcutan). Als Blutspender dienten zwei kleinere oder eine größere Katze. Die Entblutung erfolgte unter Ersatz des ausgelaufenen Blutes durch Tyrode-Lösung (25 ccm/kg). Das Blut wurde durch Heparin „Promonta" ungerinnbar gemacht. Füllung des Reservoirs mit 180–200 ccm Blut. Registrierung des Venendruckes von der Cava inf. aus mittels eines Wassermanometers, des arteriellen Druckes von einer Verzweigung der Truncuskanüle aus mittels eines Quecksilbermanometers, des Minutenvolumens mittels einer Kippstromuhr. Die arterielle Kanüle war in allen Versuchen dieselbe.

Die funktionelle Prüfung (Druckbelastungsproben) ging nach folgendem Versuchsplan vor sich: Nach Fertigstellung des Präparats wurde bei einem Minutenvolumen von etwa 150 ccm und einem arteriellen Druck von 80 mm Hg 15 Minuten abgewartet. Die physikalischen Bedingungen des Zuflußsystems wurden während des ganzen Versuchs konstant gehalten, indem Schwankungen des Blutspiegels im Reservoir durch Herauf- bzw. Herabsetzen des Zuflußgefäßes ausgeglichen wurden. Die Belastungen bestanden in stufenweiser Erhöhung des arteriellen Widerstandes (5 mm Hg Druckerhöhung in der Widerstandskammer pro Minute). Sie dienten zur Feststellung der Insuffizienzgrenze, welche erreicht war, wenn die arterielle Druckschreibung auf der Rußkurve trotz weiterer Erhöhung des Widerstandes keine Steigerung des arteriellen Druckes mehr verzeichnete. Dann wurde wieder mit doppelter Geschwindigkeit auf die Ausgangsblutdruckhöhe entlastet. Nach 5 Minuten schloß sich eine zweite Belastung an usw. Die Versuche wurden abgebrochen, wenn sich infolge der starken Stauungen im Lungenkreislauf bei den einzelnen Belastungen Lungenödem entwickelte. Meist konnten 3–6 Belastungen ausgeführt werden.

Dieser Versuchsplan wurde aber durch folgende Erscheinung mehr oder weniger durchkreuzt. In den meisten Versuchen trat bei stufenweiser Erhöhung des arteriellen Widerstandes bei einem bestimmten, meist schon sehr hohen Blutdruck (um 200 mm Hg) eine anhaltende Arrhythmie des Herschlags auf, die erst wieder verschwand, wenn wieder entlastet wurde. Diese Entlastung mußte auch deshalb vorgenommen werden, weil die Arrhythmie zu Insuffizienzerscheinungen führte. Wurden nun nach der Entlastung neue Belastungsproben angeschlossen, so war festzustellen, das die Neigung zu diesen Rhythmusstörungen allmählich verschwand. Bei den normalen Herzen traten meist bei der zweiten oder dritten Belastung keine Änderungen des Rhythmus bei hohen Drucken mehr auf, so daß es schließlich doch möglich war, die Insuffizienzgrenze bei normaler Rhythmik zu erreichen.

Über das Wesen der bei Drucksteigerungen auftretenden Arrhythmien geben zahlreiche Untersuchungen schon aus älterer Zeit Aufschluß. Sie sind namentlich von Hering[11] analysiert und als Extrasystolien vom Charakter der Bigeminie, Trigeminie usw. erkannt worden. Nach Rothberger und Winterberg[12] gehen sie bei Widerstandsvermehrung vor dem linken Herzen von der Wand des linken Ventrikels aus. Von de Heer[13] hebt besonders hervor, daß erst sehr hohe Drucksteigerungen die Extrasystolen auslösen. Wir selbst haben eine Analyse der beob-

[11] Hering, H. E.: Pflügers Arch. **82**, 1 (1900). — [12] Rothberger, C. J., u. H. Winterberg: Pflügers Arch. **132**, 253 (1910). — [13] de Heer, J. L.: Ac. proefschrift, Utrecht 1912.

Tabelle 2. Druckleistungsversuche am Katzenherzen.

Nr.	Anfangsgewicht in g	Endgewicht in g	Geschlecht	Herzgewicht in g	Dauer der Vorbehandlung (Tage)	Störung im Allgemeinzustand	Einzelbelastungen Druck in mm Hg 1	2	3	4	5	6	7	8
							A. Normale Katzen.							
1	—	2580	♂	12,8	—	—	211	210	[251]	[234]	—	—	—	
2	—	2875	♂	15,6	—	—	209	207	vorzeitig abgebrochen					
3	—	2760	♀	11,4	—	—	220	218	[242]	—	—			
4		2850	♀	11,0		—	224	[242]	[230]	[229]	—		—	
5	—	2360	♀	12,0	—	—	212	228	[239]	—	—	—	—	
6	—	2830	♂	13,1	—	—	228	[237]	—	—	—	—	—	—
7	—	3000	♂	14,5	—	—	[231]	—	—	—	—	—	—	—
8	—	2550	♂	10,1	—	—	[230]	[220]	[214]	—	—	—	—	—
9		3950	♀	22,7		—	[224]	[191]	[168]	[158]	—	—	—	—
10	—	2550	♀	10,8	—	—	200	[214]	[195]	[193]	—	—	—	—
11		2220	♂	9,9		—	[213]	[190]	[166]	—	—		—	
12	—	2290	♀	10,3		—	[210]	[208]	[201]	[195]	—			
13	—	2050	♀	7,6	—	—	194	200	194	[204]	—	—	—	—
14		2550	♂	11,4		—	170	176	183	188	[194]	[179]	[175]	
							B. Kumulierende Katzen.							
15	2690	2395	♀	16,3	5	?	207	216	235	[238]	[235]	—	—	—
16	3080	2690	♂	12,9	4	?	218	207	208	220	224	230	228	[236]
17	2720	2460	♀	13,2	4	?	183	189	204	211	222	[230]	[220]	—
18	2390	2050	♂	10,1	4	+ +	195	205	[211]	—	—	—	—	—
19	2700	2475	♂	14,3	4	+	184	178	176	170	163	169	161	—
20	2490	2225	♀	14,2	6	+	204	196	215	[227]	—	—	—	—
21	2830	2410	♀	12,3	6	?	206	vorzeitig abgebrochen					—	—
22	2600	2630	♀	9,4	6	0	196	199	208	206	199	210	[221]	—
23	2780	3000	♂	14,3	6	?	[215]	[212]	—	—	—	—	—	—
24	2385	2100	♀	9,8	7	+	201	191	198	199	202	211	206	—
25	2220	1950	♂	10,3	6	+ +	188	183	184	186	188	182	—	—
26	2410	2240	♂	8,8	6	+ +	[178]	[157]	—		—		—	—

Zeichenerklärung: 200 Arterieller Druck beim Auftreten von Arrhythmie.

[200] Arrhythmien erst an der Insuffizienzgrenze.

[200] Insuffizienzgrenze bei störungsfreiem Druckanstieg.

Tabelle 2 (Fortsetzung).

Nr.	Anfangsgewicht in g	Endgewicht in g	Geschlecht	Herzgewicht in g	Dauer der Vorbehandlung (Tage)	Störung im Allgemeinzustand	Einzelbelastungen Druck in mm Hg 1	2	3	4	5	6	7	8
27	3000	2630	♂	11,9	9	0	197	203	205	215	234	245	—	–
28	2650	2540	♂	12,7	8	?	198	199	206	—	—	—	—	—
29	2575	2140	♀	12,7	8	+	203	188	188	184	--	-		
30	2650	2565	♀	11,6	8	?	166	165	168	176	179	182	197	190
31	2625	2600	♀	10,3	9	?	184	169	169	192	—			—
32	2460	2300	♀	10,3	9	?	183	(Frequenz 240—260!)					—	—
33	2885	2440	♀	9,4	8	+	172	174	174	vorzeitig abgebrochen				

achteten Rhythmusstörung nicht unternommen, konnten aber durch bloße Inspektion des Herzens feststellen, daß die Herzschläge meist paarweise auftraten. Es hat sich also auch bei uns wohl meist um Bigeminie gehandelt. Seltener ließ der Herzschlag keine Gruppenbildung erkennen.

Wir haben darauf verzichtet, etwa durch Änderung der Versuchsbedingungen eine Verhinderung der Arrhythmien zu erstreben. Weese und Dieckhoff, deren Technik in einigen Punkten von unserer abwich (defibriniertes Blut u. a.), haben zwar nicht über ähnliche Erscheinungen berichtet. Aber es schien uns doch von Interesse festzustellen, ob neben der Druckleistung auch eine Beeinflussung der extrasystolischen Erregbarkeit durch die kumulative Digitoxinvergiftung auf diese Weise zu erfassen sei. Denn gerade in dieser Hinsicht konnten ja sehr wichtige Veränderungen in den Herzen vor sich gehen. Das Ergebnis entsprach in der Tat den Erwartungen, wie aus der Tabelle 2 hervorgeht.

In der Tabelle entsprechen die Druckwerte den bei den einzelnen Belastungen erreichten Höchstdrucken. Die nicht eingerahmten Zahlen gehören Belastungsproben an, die durch Irregularitäten unterbrochen wurden, und geben die Druckwerte wieder, bei denen diese auftraten. Die umrahmten Zahlen drücken die Insuffizienzgrenze bei ungestörtem Druckanstieg aus. Wie ersichtlich, ist bei den mit Digitoxin vorbehandelten Herzen die durch Irregularitäten gekennzeichnete Versuchsphase meist erheblich verlängert. Es finden sich hier Versuche (Nr. 16, 19, 22, 24, 25, 27), in denen selbst nach 6—8-facher Wiederholung der Belastungen kein ungestörter Druckanstieg zu verzeichnen war, so daß solche Versuche schließlich abgebrochen werden mußten, ohne daß die maximale Druckleistungsfähigkeit geprüft werden konnte. Bisweilen ist bei den digitalisierten Herzen zu beobachten (Versuch Nr. 17 und 27), daß die ersten Irregularitäten schon von sehr niedrigen Druck-

werten ausgehen, obwohl die später erreichte Insuffizienzgrenze sehr hoch liegt. Dagegen werden im großen und ganzen bei den normalen Herzen die Irregularitäten von um so höheren Drucken ausgelöst, je höher die maximale Leistungsfähigkeit des Herzens ist.

Das geschilderte Verhalten der vorbehandelten Herzen tritt schon nach kurzer, d. h. 4maliger Vorbehandlung auf. Wir kommen somit zu dem Resultat, daß die bei der Nachtitration gefundene, schon nach 4mal wiederholten Gaben von je 0,017 mg/kg Digitoxin auftretende überadditive Wirkung auf die Glykosidempfindlichkeit sich mit der von uns angewandten Methode auch auf funktionellem Gebiet erfassen läßt. Wir finden bei der Katze schon frühzeitig und nach sehr kleinen Dosen eine nachhaltige Störung der Erregungsvorgänge, die ihren Ausdruck in einer erhöhten und verlängerten Extrasystolenbereitschaft unter den Bedingungen des Herzlungenpräparats findet.

Trotz dieser wertvollen Erfahrungen war das Auftreten der Irregularitäten im Hinblick auf die Bewertung der maximalen Druckleistungen von Nachteil. Die Maximaldrucke sind nicht ohne Kritik untereinander vergleichbar, da sie bald in frühen, bald erst in späteren Versuchsphasen bestimmt werden konnten. Man darf annehmen, daß die erst nach zahlreichen vergeblichen Belastungsproben erfaßten Maximaldrucke nicht mehr so hoch liegen, wie sie zu Beginn des Versuchs gelegen hätten, wenn nicht die Irregularitäten dazwischengekommen wären. Denn die vorausgehenden, bis zum Auftreten von Irregularitäten durchgeführten Belastungen müssen das Herz schwächen, wenn auch eine stärkere Schädigung erst durch die fast isometrische Arbeit an der Insuffizienzgrenze zustande kommt. Läßt man diese Tatsachen jedoch zunächst außeracht, so ergibt sich bei der Betrachtung der Tabelle 1 folgendes Bild:

Die maximalen Leistungen der normalen Herzen liegen zwischen 194 und 251 mm Hg. Unter den digitalisierten Herzen, die nach der Dauer der Vorbehandlung in drei Gruppen geordnet sind, weist die erste Gruppe (4—5mal vorbehandelte Tiere) Maximaldrucke von 211—238 mm Hg auf. In einem der fünf Versuche (Nr. 19) konnte die Insuffizienzgrenze nicht ermittelt werden. Die Druckwerte der übrigen vier Versuche liegen aber jedenfalls im Bereich der Norm. Das gleiche gilt für die zweite Versuchsgruppe (6—7mal vorbehandelte Tiere). Unter den vier verwertbaren Versuchen (Nr. 20, 22, 23, 26) finden sich mit einer Ausnahme (Versuch Nr. 26) noch im Bereich der Norm liegende Werte (215—227 mm Hg). Auch bei den drei nicht beendigten Versuchen (Nr, 21, 24, 25) läßt sich wenigstens für zwei Versuche (Nr. 21 und 24) aussagen, daß die Druckleistung nicht unter dem normalen Durchschnitt gelegen haben kann. Denn die bis zum Auftreten von Arrhythmien erreichten Druckwerte (206 und 211 mm Hg) liegen schon ziemlich hoch, ohne daß die Insuffizienzgrenze erreicht war. Dagegen scheint in der letzten Gruppe (8—9mal vorbehandelte Tiere) ein Leistungsabfall feststellbar zu sein. Denn

unter den sechs verwertbaren Versuchen sind fünf relativ schwache Herzen mit Leistungen zwischen 183 und 206 mm Hg. Nur der Versuch Nr. 27 bildet eine Ausnahme (auffallend hohe Leistung!).

Wir finden also nach 4—6maliger Vorbehandlung Druckwerte von der Größenordnung der normalen Herzen, nach 8—9maliger Vorbehandlung eine gewisse Tendenz zur Leistungsabnahme. Dieses Ergebnis findet eine übersichtliche Darstellung in der Abb. 2.

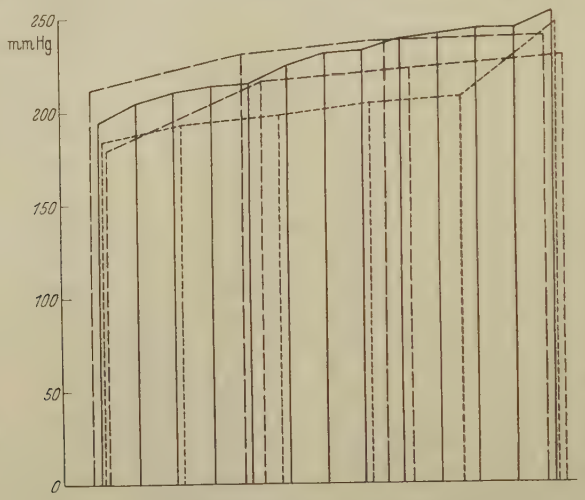


Abb. 2. Druckleistungsversuche am Katzenherzen.
Normale Katzen
— — — 4—5 Tage vorbehandelt
------- 6 „ „
· · · 8—9 „ „

Berücksichtigt sind hier nur Versuche, in denen eine Bestimmung der Insuffizienzgrenze möglich war. Jede Einzelsäule entspricht einem Versuch und gibt den geleisteten Maximaldruck wieder, unabhängig davon, in welche Versuchsphase diese Bestimmung fiel. Die Einzelsäulen sind, für jede Versuchsgruppe getrennt, über den gleichen Flächenraum in steigender Rangordnung verteilt worden. Die Spitzen der Säulen wurden miteinander durch Linien verbunden. Wie ersichtlich ordnen sich die Verbindungslinien der beiden ersten Gruppen vorbehandelter Tiere ziemlich eng um den Verlauf der den normalen zugehörigen Linie. Offenbar besteht aber für die letzte Gruppe eine leicht nach unten abweichende Richtung.

Nun muß, wie schon angeführt, an diesem Ergebnis berücksichtigt werden, daß hier Druckwerte aus ganz verschiedenen Phasen der Einzelversuche miteinander verglichen worden sind. Insbesondere besteht zwischen normalen und digitalisierten Herzen ein Unterschied, da bei letzteren die Maximaldrucke durchschnittlich erst später als bei den ersteren erreicht wurden. Es ist daher durchaus möglich, daß die digitalisierten

Herzen, am Maßstab der Normalherzen gemessen, zum Teil etwas leistungsfähiger, als es hier zum Ausdruck kommt, erscheinen würden, wenn es möglich gewesen wäre, alle Herzen unter gleichen Versuchsbedingungen miteinander zu vergleichen. Infolgedessen läßt sich die Tatsache, daß bei den 4—6mal vorbehandelten Katzen normale Druckwerte auftraten, nur in dem Sinne verwerten, daß hier — allerdings mit um so größerer Sicherheit — eine Leistungsschädigung ausgeschlossen werden kann. Ungeklärt bleibt jedoch bei den kurz vorbehandelten Tieren die Frage nach einer etwaigen Leistungssteigerung. Hier hätten auch mehr Versuche ausgeführt werden müssen, wovon wir aber Abstand nahmen, da die erhöhte Neigung der digitalisierten Herzen zu Extrasystolen den Nachweis leistungssteigernder Digitaliseffekte doch nicht in ungestörtem Maße ermöglicht hätte. Unangetastet bleibt von dieser Überlegung der Leistungsabfall bei längerer Vorbehandlung. Denn daß hierzu eine Tendenz vorhanden ist, ergibt sich auch bei einem Vergleich der drei Gruppen digitalisierter Herzen untereinander, die ja im großen und ganzen hinsichtlich der Dauer der Extrasystolenbereitschaft die gleichen Verhältnisse ergeben und daher untereinander verglichen werden können.

Das wahre Verhältnis, in dem die Druckleistungen der einzelnen Herzen zueinander stehen, ist also etwas verzeichnet. Wir können aber mit Sicherheit sagen, daß die tägliche Zufuhr von 5% der Dosis letalis Digitoxin mindestens innerhalb der ersten Woche die dynamische Herzleistung noch nicht beeinträchtigt. Um so wertvoller war es für uns, daß wenigstens das Verhalten der Extrasystolen auch in dieser Zeit schon Schädigungen erkennen ließ. Daher nehmen wir den durch die Extrasystolen bedingten Nachteil gern in Kauf.

Es sei noch auf die Tatsache hingewiesen, daß gelegentlich auch hinsichtlich der Frequenz ein Unterschied zwischen normalen und vorbehandelten Herzen festzustellen war. Sie war im Durchschnitt bei den vorbehandelten Tieren etwas niedriger. Die Frequenzen der einzelnen Versuche lagen bei den vorbehandelten Herzen zwischen 125 und 185 in der Minute, bei den normalen Herzen zwischen 155 und 200. Aus der Reihe fällt nur die hohe Frequenz in Versuch Nr. 32, die wohl Ausdruck einer besonderen Störung war.

d) Besprechung der Katzenversuche.

Wir sind in diesen Versuchen von der Beobachtung Lendles ausgegangen, wonach noch sehr kleine Digitoxindosen bei wiederholter Verabreichung einen starken kumulativen Effekt hervorbringen, und haben sie mit täglichen Gaben von 5% der letalen Dosis bestätigen können. Die anschließend im Herzlungenpräparat durchgeführte Leistungsprüfung der vorbehandelten Herzen galt ursprünglich nur der Erfassung der absoluten Herzkraft. Wesentliche Veränderungen sind dabei nicht zutage getreten. Vor allem waren bis zu einer 6 Tage dauernden Vorbehandlung,

d. h. bis zu einer Gesamtdosis von etwa 0,1 mg kg Digitoxin, keine von der Norm abweichenden Verhältnisse mit Sicherheit zu ermitteln. Das trifft besonders für die Frage nach einer etwaigen Leistungsschädigung zu. Ob etwa statt dessen sogar positive Wirkungen auf die Herzleistung bestanden, ist für unsere Versuche nicht zu entscheiden, da diese durch das vermehrte Auftreten von Extrasystolen bei den digitalisierten Herzen nicht zur vollen Darstellung hätten gelangen können. Daher sind auch keine Erörterungen möglich im Hinblick auf die Befunde von Schäfer[14], der mit kleinen, 4—6mal wiederholten Gaben von Digipurat einen fördernden Einfluß auf die Herzdynamik ermittelte. Die Versuche von Weese und Dieckhoff[6], die das gleiche mit einmaligen hohen Dosen (0,1 mg Digitoxin) erzielten, sind allerdings wegen der andersartigen Dosierung nicht mit unseren vergleichbar.

Andererseits ist für größere Gesamtdosen (0.14—0.15 mg), d. h. nach 8—9tägiger Vorbehandlung eine Tendenz zur Leistungsabnahme vorhanden, wie sie Weese und Dieckhoff in allerdings wesentlich höherem Grade nach einmaligen hohen Dosen (0,2 mg) beobachtet haben. Dieser schädliche Digitoxineffekt ist in unseren Versuchen noch nicht sehr ausgesprochen, sondern gewissermaßen erst angedeutet. Aber unsere Beobachtung findet eine Stütze in den Mitteilungen Lindners[15] auf dem letzten Pharmakologentag. Lindner konnte nämlich noch mit täglichen Gaben von 3,3% der sogenannten Hatcherdosis (das sind etwa 0,013 mg Digitoxin, wenn man die Hatcherdosis gleich 0.4 mg setzt) fettige Degenerationen im Herzmuskel mit gelegentlichem Übergang in Nekrosen erzeugen. Wir haben diese Befunde inzwischen auch durch länger fortgesetzte Vorbehandlung unserer Katzen (frühestens nach etwa 14 Tagen) reproduzieren können. Die Dauer der dazu notwendigen Vorbehandlung ist allerdings größer als in unseren vorerwähnten Versuchen (bei Lindner schwanken die Gesamtdosen zwischen 55 und 145% der Hatcherdosis). Da aber funktionelle Störungen den anatomischen vorauseilen, sind wir berechtigt, in den Ergebnissen unserer Leistungsprüfung den allerersten Beginn dieser zu anatomischer Schädigung führenden Digitoxinvergiftung zu sehen.

Die am meisten hervorstechende Digitoxinwirkung war die funktionelle Störung der Erregungsvorgänge, die schon frühzeitig nachweisbar ist. Sie findet ihren Ausdruck darin, daß die im Herzlungenpräparat mehr oder weniger vorhandene vorübergehende Neigung zu arrhythmischer Herztätigkeit bei hohen arteriellen Widerständen an digitoxinvergifteten Herzen länger erhalten bleibt. Wir finden also hier die bekannte Förderung der heterotopen Reizbildung durch Digitalis wieder.

---

[14] Schäfer, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **174**, 286 (1934); vgl. auch J. Dieckhoff: Ebenda **182**, 280 (1936). — [15] Lindner, W.: Ebenda **190**, 210 (1938).

Die Bedeutung der nachgewiesenen funktionell schädigenden Einflüsse vorausgehender Digitoxinbehandlung liegt darin, daß sie hinüberleiten zum Verständnis der erhöhten Glykosidempfindlichkeit dieser Herzen.

Die Beeinträchtigung der Herzfunktion in den ersten Tagen erscheint vielleicht gering im Hinblick auf die immerhin nicht unbedeutende Erhöhung der Glykosidempfindlichkeit. Wir glauben aber, daß die Frühveränderungen, die sich naturgemäß zunächst nur an den störungsempfindlicheren Erregungsvorgängen abspielen, das Herz für die Nachtitration sensibilisieren müssen. Berücksichtigen wir, daß bei der langsamen intravenösen Infusion bis zum Herzstillstand das erste Zeichen toxischer Glykosidwirkung das Auftreten von Extrasystolen ist, so wird verständlich, daß bei erhöhter Neigung zu Extrasystolen das toxische Stadium früher einsetzt. Da die Irregularitäten weitere Funktionsstörungen des Herzens nach sich ziehen, ist die Möglichkeit gegeben, daß schließlich der ganze Vergiftungsablauf eine Abkürzung erfährt.

Die zunächst funktionell, dann aber auch anatomisch faßbare Schädigung des Herzmuskels bei fortgesetzter Digitoxinzufuhr kommt natürlich als weitere Ursache der Sensibilisierung hinzu. Daß aber diese Wirkung mindestens in der ersten Woche ausbleibt, verdient besonders hervorgehoben zu werden. Denn so lassen sich gewisse scheinbare Diskrepanzen in den Beobachtungen und Erörterungen verschiedener Autoren erklären. Lendle[5] mußte aus seinen Versuchen mit der Auffüllmethode schließen, daß noch 0,054 mg Digitoxin, auf 6 Tage verteilt gegeben, das Herz schädigen. Anscheinend konnte man das aber nicht recht in Einklang bringen mit den Beobachtungen von Weese und Dieckhoff. Denn aus deren Versuchen konnte man entnehmen, daß selbst 0,1 mg/kg zu keinen Schädigungen führt, da die Autoren sogar leistungsfördernde Nachwirkungen beschrieben. Es spielte dabei keine Rolle, daß in diesen Versuchen die Gesamtdosis von 0,1 mg auf einmal gegeben worden war; denn Lü Fu Hua[16] zeigte unter Lendle, daß man die gleiche Sensibilisierung des Herzens erhält, gleichgültig, ob man eine bestimmte Dosis in wiederholte kleine Gaben verzettelt oder in wenige große zusammenfaßt. Ebensowenig schien es mit den Befunden von Weese und Dieckhoff in Einklang zu bringen, daß nach Bauer und Fromherz[2, 3] 0,1 mg Digitoxin, in Abständen von 2 Tagen 2—3mal gegeben, durch Addition von Schädigungen zum Tode führt. Die Klärung dieser Sachlage ist jedoch darin gegeben, daß Weese und Dieckhoff nur über die motorische Leistung des Herzens etwas aussagen. Ihre Befunde schließen daher nicht aus, daß die empfindlicheren Erregungsvorgänge schon gestört waren. So könnte sehr wohl die Widerstandsfähigkeit des Herzens gegenüber mechanischer Belastung erhöht gefunden werden, obwohl gleichzeitig schon die Resistenz gegenüber zusätzlicher Glykosidbelastung abgenommen hat.

[16] Lü-Fu-Hua: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **180**, 539 (1936).

Die Gesamtheit der mitgeteilten Befunde läuft auf die Feststellung hinaus, daß dem Kumulationseffekt wiederholter kleiner Digitoxindosen funktionelle Störungen zugrunde liegen. Diese müssen jedenfalls zur Erklärung der überadditiven Wirkung der kleinen Dosen herangezogen werden, wozu die Annahme einer Kumulation der Substanz nicht in der Lage wäre. In welchem Ausmaß daneben eine Kumulation der Substanz beteiligt sein könnte, ist freilich durch die mitgeteilten Befunde nicht zu entscheiden.

II. Kumulationsversuche am Hunde.

a) Ergebnisse der Nachtitration mit Strophanthin.

Abgesehen von kleinen Abweichungen entsprechen die an Hunden ausgeführten Versuche den Katzenversuchen. Zunächst wurde wiederum mit der „Auffüllmethode" die Wirkung wiederholter kleiner Digitoxindosen auf die Strophanthinempfindlichkeit geprüft. Als tägliche Einzeldosis wählten wir 10% der Dosis letalis, die wir 6 Tage lang intravenös zuführten. Die Dosis letalis bei intravenöser Injektion (Injektionsgeschwindigkeit 10 Minuten) betrug bei 8 Hunden im Mittel etwa 0.55 mg/kg Digitoxin, die tägliche Einzelgabe mithin 0,055 mg/kg. Am 7. Tage folgte die Bestimmung der Auffülldosen mit g-Strophanthin (Narkose mit 0,06 g/kg Chloralose; Infusionsgeschwindigkeit 0,003 mg kg/Min. Strophanthin). Das Ergebnis zeigt die Tabelle 3.

Tabelle 3. Strophanthinempfindlichkeit bei normalen und vorbehandelten Hunden.

Nr.	Anfangsgewicht kg	Endgewicht kg	Geschlecht	Herzgewicht g	Strophanthintiter mg/kg Endgewicht
			A. Normale Hunde.		
1	—	6,4	♂	58,5	**0,120**
2	—	4,9	♂	55,0	**0,123**
3	—	12,2	♂	98,5	**0,131**
4	—	6,65	♂	68,5	**0,139**
5	—	5,55	♂	76,0	**0,142**
6	—	8,85	♀	84,0	**0,151**
7	—	7,45	♀	57,0	**0,152**
8	—	8,6	♂	85,5	**0,159**
9	—	7,4	♀	89,5	**0,161**
				Mittelwert:	**0,142**
			B. Vorbehandelte Hunde.		
10	5,0	4,45	♂	33,5	**0,114**
11	14,75	14,1	♀	112,0	**0,115**
12	7,3	6,95	♂	75,0	**0,118**
13	7,4	7,15	♀	64,0	**0,119**
14	10,15	9,5	♀	103,5	**0,122**
15	9,8	8,95	♂	91,8	**0,123**
16	11,3	11,2	♂	97,0	**0,139**
				Mittelwert:	**0,121**

Wir finden danach zwischen normalen und vorbehandelten Hunden nur einen kleinen Unterschied. Während der normale Strophanthintiter 0,142 mg/kg beträgt, liegt der entsprechende Mittelwert bei den vorbehandelten Hunden mit 0,121 mg/kg nur etwa 15% tiefer. Es besteht also eine mäßige Sensibilisierung, die aber die Grenzen des normalen Streuungsbereiches kaum überschreitet. Die überadditive Wirkung fehlt. Vielmehr machen die Kumulationsreste nur einen Bruchteil der gesamten vorher gegebenen Digitoxinmenge aus, wie die Abb. 3, die das Verhältnis von Vordosis und Kumulationsrest nach Umrechnung in Prozent der letalen Dosis bringt, auf den ersten Blick erkennen läßt.

Auch das Allgemeinbefinden der Tiere war ungestört. Die wohl vorhandene leichte Gewichtsabnahme erscheint in der Tabelle etwas stärker, weil vor der Strophanthininfusion eine mehr als 24stündige Nahrungskarenz eingeschaltet wurde.

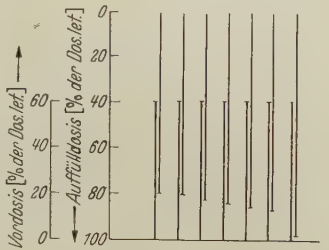


Abb. 3. Verhältnis von Vordosis zu Auffülldosis beim Hunde.

b) Prüfung der Herzen im Herzlungenpräparat*.

Die Hunde hatten ein Gewicht von 5—12 kg. Es kamen nur ausgewachsene, aber nicht zu alte Tiere zur Verwendung. Zur Füllung des venösen Reservoirs wurde in erster Linie Blut benutzt, das durch Aderlaß zu Beginn der Operation von dem Versuchshund selbst gewonnen war (30 ccm/kg). Es wurde durch Heparin „Promonta" ungerinnbar gemacht. Da wir im Reservoir 300—400 ccm Blut haben mußten, wurde noch Blut von einem zweiten Spenderhund zugesetzt, der für 2—3 Versuche ausreichend Blut lieferte. Narkose: Chloralose (0,06 g/kg in 25% Urethan körperwarm gelöst). Die arterielle Kanüle hatte eine lichte Weite von 6 mm.

Zu Beginn wurde bei einem Druck von 100 mm Hg und einem Minutenvolumen von 300 ccm, bei Hunden über 10 kg 375 ccm, 15 Minuten gewartet. Alsdann begannen die Belastungen, die wie bei der Katze in stufenweiser Erhöhung des Widerstandes bis zur Insuffizienzgrenze bestanden. Die sehr starken Schwankungen des Blutspiegels im Reservoir während der Be- und Entlastung wurden durch Niveauregulierung ausgeglichen. Im allgemeinen konnten 6 Belastungen ausgeführt werden.

Nach diesem Versuchsplan verglichen wir in einer zeitlich zusammenliegenden Versuchsserie 8 normale und 9 an den 6 vorausgehenden Tagen vorbehandelte Hunde. Die letzte Injektion lag 18—24 Stunden vor Beginn der Operation zurück. Extrasystolische Arrhythmien traten in den Hundeversuchen bei den Belastungen nicht auf. Die Ergebnisse gestatten daher nur eine Aussage über das Verhalten der absoluten Druckleistungen. Hierüber berichtet die Tabelle 4.

Die bei der ersten Belastung aufgebrachten Höchstdrucke liegen bei den normalen Herzen zwischen 184 und 234 mm Hg. In den folgenden

* Bei der Durchführung dieser Versuche hat mich in dankenswerter Weise Herr Dr. B. Winter unterstützt.

Tabelle 4. Druckleistungsversuche am Hundeherzen (1. Serie).

Nr.	Gewicht kg	Geschlecht	Herzgewicht g	Einzelbelastungen Druck in mm Hg 1	2	3	4	5	6		
				A. Normale Hunde.							
1	10,3	♂	100,5	234	204	182	158	126	—	Alternans	+
2	10,2	♀	122,5	222	200	180	157	140	120	„	++
3	7,3	♀	72,5	214	198	186	165	151	120	„	+++
4	9,0	♂	86,0	214	188	169	156	139	121		
5	11,4	♂	118,0	212	200	178	148	120	98		
6	9,2	♀	91,0	188	177	162	152	140	126		
7	6,6	♀	52,5	184	177	156	150	140	125		
8	6,4	♂	59,5	184	176	166	—	—	—	„	+
				B. An den vorausgehenden Tagen vorbehandelte Hunde.							
9	5,2	♀	72,0	262	212	185	156	132	—		
10	7,0	♀	64,0	236	236	222	192	178	—	Alternans	(+)
11	6,3	♂	65,0	226	206	188	168	148	134		
12	4,8	♂	42,0	222	195	180	162	136	123		
13	11,5	♂	92,5	221	206	192	170	144	120		
14	6,6	♀	70,5	212	195	171	158	142	125		
15	11,8	♂	92,0	198	180	154	126	114	—	„	+
16	7,7	♀	68,5	190	182	170	—	—	—		
17	7,1	♀	55,5	180	164	157	146	141	132		

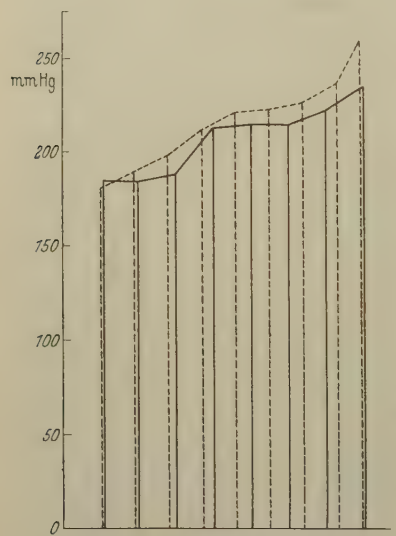


Abb. 4. Druckleistungsversuche am Hundeherzen (1. Serie).
——— Normale Hunde.
- - - - - - - Vorbehandelte Hunde.

Belastungen nehmen die Leistungen stetig ab. Von Interesse ist, daß dieser Leistungsabfall bei den anfänglich schwachen Herzen meist flacher verläuft, so daß diese zum Schluß höhere Druckwerte aufbringen können als die anfänglich stärkeren Herzen.

Vergleicht man hiermit die vorbehandelten Herzen, so ergibt sich, daß die vorbehandelten Herzen etwas leistungsfähiger sind. Die Höchstdrucke (erste Belastung) liegen zwischen 180 und 262 mm Hg, und zwar wird in 5 von 9 Versuchen mindestens 220 mm erreicht, während dies nur bei 2 von 9 Normalversuchen der Fall ist.

Auch in der zweiten und dritten Periode usw. ist der Unterschied zwischen normalen und vorbehandelten Herzen nachweisbar. Bei jedem einzelnen Versuch muß dabei noch berücksichtigt werden, daß, wie schon erwähnt, die Steilheit des Leistungsabfalls von der anfänglich geleisteten Druckhöhe mit abhängt.

Eine quantitative Bewertung der gefundenen Differenzen ermöglicht erst in vollem Maße das in Abb. 4 wiedergegebene Vergleichsbild. Es ist

auf eine schon bei den Katzenversuchen besprochene Weise erhalten. Jede Einzelsäule entspricht einem Versuch und gibt die bei der ersten Belastung erreichte Druckhöhe wieder.

Die Abbildung erlaubt nur, von einem kleinen Unterschied zwischen normalen und vorbehandelten Hunden zu sprechen, der im Durchschnitt etwa 10 mm Hg zugunsten der vorbehandelten Herzen beträgt. Doch sehen wir unsere Annahme, aus diesem Ergebnis eine Nachwirkung der Vorbehandlung herauslesen zu können, noch in einer qualitativen Hinsicht gestützt.

Bei vielen Normalherzen traten nämlich zu Beginn der Versuche oft sehr hartnäckige Alternanspulse auf, die wir auf Ernährungsstörungen des Herzens im Gefolge der großen Aderlässe zu Beginn der Operation zurückführen können. Es war nun immerhin auffallend, daß diese Störung bei den vorbehandelten Hunden seltener und vor allem nur als rasch vorübergehende Erscheinung auftrat. Bei den Normalherzen konnte dagegen die Kontraktilitätsänderung so hartnäckig sein, daß wir drei hier nicht aufgeführte Versuche abbrechen mußten, ehe es überhaupt möglich war, Belastungsversuche anzustellen. Offenbar spricht auch diese Beobachtung für eine günstige Beeinflussung der Herzkontraktilität durch die Vorbehandlung.

Da immerhin die quantitativen Ausschläge gering waren, so war zu überlegen, ob mit dieser Methode überhaupt wesentlich größere Effekte zu erzielen sind. Daher mußte es von Interesse sein zu erfahren, welche Ausschläge man erhält, wenn den Herzen unmittelbar vor dem Versuch

Tabelle 5. Druckleistungsversuche am Hundeherzen (2. Serie).

Nr.	Gewicht kg	Geschlecht	Herzgewicht g	Einzelbelastungen Druck in mm Hg 1	2	3	4	5	6	
				A. Normale Hunde.						
1	5,9	♂	68,5	214	190	162	140	118	102	
2	9,5	♂	119,5	210	178	145	118	114	102	
3	8,0	♂	84,5	208	192	170	135	107	94	Alternans +
4	9,0	♂	92,5	202	194	160	151	120	101	
5	12,2	♀	86,5	166	146	128	114	100	92	
				B. Hunde, denen eine Stunde vor der Operation Digitoxin verabreicht wurde.						
				a) kleinere Dosis.						
6	8,5	♂	90,0	240	204	190	165	134	113	
7	10,4	♂	98,0	238	206	180	156	135	126	
8	8,6	♂	77,5	230	180	160	137	117	100	
9	8,1	♀	96,0	201	171	148	132	114	104	
10	11,1	♀	90,5	178	166	156	150	146	136	
				b) größere Dosis.						
11	6,8	♂	68,0	280	210	162	136	110	101	
12	7,7	♀	99,5	250	162	138	112	110	96	
13	6,0	♂	69,0	198	178	150	142	128	114	

Digitoxin in größeren Dosen zugeführt wird. Zur Beantwortung dieser Frage steht die folgende kleine Versuchsserie zur Verfügung, die 5 Normalherzen und 8 vorbehandelte Herzen umfaßt. Etwa eine Stunde vor der Operation wurde den Hunden intravenös teils 15 %, teils 25 % der letalen Digitoxindosis einverleibt (Tabelle 5 und Abb. 5).

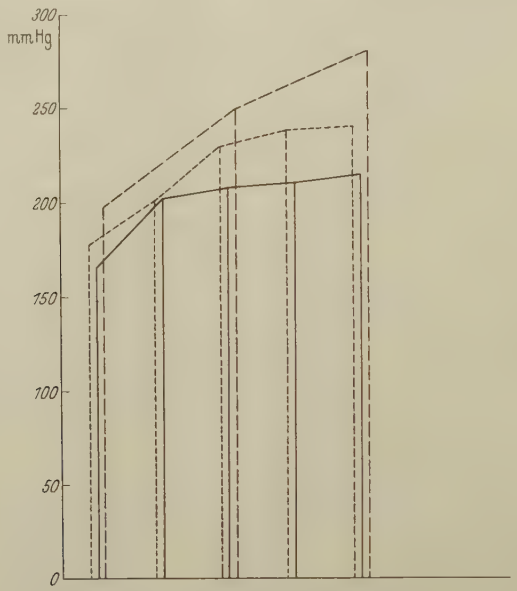


Abb. 5. Druckleistungsversuche an Hundeherzen. (2. Serie.)
——— Normale Hunde.
— — — Vorbehandelte Hunde (größere Dosis).
------- Vorbehandelte Hunde (kleinere Dosis).

Wir haben diese Versuche zu einer ganz anderen Zeit als die vorangehend beschriebenen und außerdem unter einigen technischen Abweichungen ausgeführt, weshalb wir die absoluten Druckhöhen nicht mit den vorigen vergleichen wollen. Es ist aber kein Zweifel, daß in dieser Serie normale und vorbehandelte Herzen stärker voneinander abweichen als es in der vorhergehenden der Fall war.

Wir werden also wohl in der vorhergehenden Versuchsserie die quantitativen Verhältnisse richtig einschätzen, wenn wir zwar nach 20 bis 24 Stunden eine positive Nachwirkung der vorausgehenden Digitoxinbehandlung noch als gegeben ansehen, aber die vorhandene systolische Wirkung nur als einen letzten, eben noch faßbaren Wirkungsrest betrachten.

Das Ergebnis der Hundeversuche, nämlich das Auftreten leistungssteigernder Digitoxineffekte, erfordert diese genaue quantitative Bewertung, weil es die Frage berührt, inwieweit es etwa durch fortgesetzte

Digitoxinzufuhr zu einer allmählichen Anhäufung größerer, systolisch stark wirksamer Digitoxinmengen im Herzen kommen könnte. Spricht an sich schon der quantitative Ausfall der Leistungsversuche nicht dafür, so mußte es doch von besonderem Interesse erscheinen, noch mit anderer Methodik die Geschwindigkeit der Digitoxinzerstörung im Hundeorganismus kennenzulernen, worüber jetzt berichtet sei.

c) Bestimmung der Eliminationsgeschwindigkeit für Digitoxin beim Hunde.

Wir schlossen uns hierbei dem Verfahren von Lendle[5] an. Es besteht im Prinzip darin, daß nach Verabreichung einer fast letalen Dosis des Glykosids anschließend das gleiche Glykosid sehr langsam nachinfundiert und dabei diejenige Zufuhrgeschwindigkeit ermittelt wird, die eben nicht mehr zum Tode führt.

Im einzelnen verfuhren wir wie folgt: Wir gaben den mit Chloralose narkotisierten Hunden intravenös 0,5 mg/kg Digitoxin (= etwa 90% der letalen Dosis). In 12 Versuchen gingen 4 Hunde schon innerhalb spätestens 1 Stunde danach, also sicher unter der Wirkung dieser Dosis ein. Die Dosierung lag also hinreichend an der letalen Grenze. 15 Minuten nach der Injektion der Vordosis wurde mit langsamer Geschwindigkeit unter Benutzung des von Straub[17] angegebenen Infusionsapparates Digitoxin nachinfundiert. Die Geschwindigkeit der Nachinfusion schwankte in den einzelnen Versuchen zwischen 0,02 und 0,01 mg/kg/Std.

Wenn im Laufe von vielen Stunden keine tödliche Wirkung eintrat, haben wir vielfach noch Digitoxin in größeren Mengen nachinjiziert, um noch einen Herzstillstand herbeizuführen und so einen annähernden Anhaltspunkt zu erhalten, um wieviel die in dieser Versuchsphase noch im Herzen vorhandene Digitoxinmenge unterhalb der letalen Dosis lag. Die maximale Entgiftungsgröße ergab sich dann aus der Differenz zwischen der gesamten bis zum Herzstillstand zugeführten Glykosidmenge (einschließlich der Vordosis) und der bei einmaliger intravenöser Injektion letalen Dosis (diese gleich 0,55 mg/kg gesetzt).

Das Ergebnis bringt die Tabelle 6.

Tabelle 6. Eliminationsgeschwindigkeit für Digitoxin beim Hund.

Nr.	Gewicht	Geschlecht	Herzgewicht	Vordosis	Infusionsgeschwindigkeit	Zwischendosierung		Gesamtdosis	Letal? nach	Entgiftungsgröße
						Dosis	Zeit			
	kg		g	mg/kg	mg/kg/Std.	mg/kg	Min.	mg/kg	Min.	mg/kg/Std.
1	7,3	♂	61,5	0,5	0,0213	0,048	310	0,655	+ 328	< **0,0198**
2	6,55	♂	41,6	0,5	0,0156	0,043	380	0,643	+ 401	< **0,0139**
3	12,0	♀	111,0	0,5	0,0184	—	—	0,693	− 644	> **0,0133**
4	8,8	♀	82,5	0,5	0,0181	—	—	0,656	+ 533	< **0,0119**
5	6,45	♀	56.5	0,5	0,0150	—	—	0,609	+ 451	< **0,0078**
6	7,2	♂	69,0	0,5	0,0124	0,028	570			
						0,028	630			
						0,019	660			
						0,027	720	0,752	+ 743	< **0,0161**
7	3,95	♀	41,0	0,5	0,0120	0,021	547			
						0,021	615	0,666	+ 635	< **0,0110**
8	8,5	♀	80,5	0,5	0,0108	—	—	0,648	− 840	> **0,0070**

[17] Straub, W.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **185**, 456 (1937).

Die beiden ersten Versuche hatten den Charakter orientierender Vorversuche, die zeitlich etwas kürzer angelegt waren. Bei einer Infusionsgeschwindigkeit von 0,021 und 0,0156 mg kg/Std. wurde nach 5—6 Stunden eine Dosis nachinjiziert, die etwa 8—10% der letalen Dosis, also dem Abstand zwischen Vordosis und akut letaler Dosis, entsprach. Da der Tod bald danach eintrat, konnte in der Versuchszeit vorher kaum mehr als die langsam nachinfundierte Digitoxinmenge zerstört worden sein. In Übereinstimmung damit sehen wir in den folgenden Versuchen bis zu einer Infusionsgeschwindigkeit von 0,0150 mg/kg/Std. noch Herzstillstand (ohne Nachdosierung) eintreten. 0,0120 mg/kg/Std. führte dagegen erst unter Zuhilfenahme einer entsprechenden Nachdosierung zum Tode.

Auch die errechneten Entgiftungsgrößen scharen sich um einen Mittelwert, der nicht viel von 0,012 mg/kg/Std. abweicht. Doch dürfte die wirkliche Entgiftungsgröße niedriger liegen.

Die Errechnung des Mittelwertes ist nämlich nicht statthaft, wenn die Vordosis so hoch liegt, daß schon einige Hunde an dieser allein zugrunde gehen. Denn die gefundene Streuung der Entgiftungsgrößen ist, gleiche Entgiftungsgröße bei allen Einzelindividuen vorausgesetzt, nichts anderes als der Ausdruck der Streuung der letalen Dosen. Die Einzelwerte für die Entgiftungsgröße werden daher bei zu hoher Vordosis nur eine geringe Abweichung nach unten zeigen, dagegen beliebig weit über den wahren Mittelwert hinaus nach oben streuen können. Außerdem ist zu berücksichtigen, daß in den Versuchen mit Nachdosierung bis zum tödlichen Ausgang mit mehr oder weniger starker Überdosierung zu rechnen ist.

Auf Grund dieser Überlegungen wird man aus den Versuchen eine Entgiftungsgröße herauslesen können, die etwa 0.01 mg/kg/Std. beträgt.

Lendle gibt für die Katze als Eliminationsgeschwindigkeit für Digitoxin 0,003 mg/kg/Std., für das Kaninchen 0,12 mg/kg/Std. an. Infolgedessen entgiftet der Hund etwa 3—4mal mehr als die Katze in der Zeiteinheit und 12mal weniger als das Kaninchen. Auch Hatcher[1] mußte schon mit der Auffüllmethode dem Hunde eine Zwischenstellung zwischen Katze und Kaninchen einräumen. Wir haben also hier wieder einen besonderen Hinweis, daß die kumulativen Nachwirkungen, die durch die Nachtitration erfaßt werden, in Abhängigkeit von der Eliminationsgeschwindigkeit der Glykoside stehen, wenn auch kumulative Nachwirkung und Glykosidspeicherung nicht mehr als identisch angesehen werden können.

Für unsere Kumulationsversuche ergibt sich aus der errechneten Entgiftungsgröße, daß die tägliche Einzelgabe von 0,055 mg/kg Digitoxin in etwa 5—6 Stunden eliminiert wird.

Besprechung der Hundeversuche.

Unsere Erfahrungen am Hunde bestätigen die schon von Hatcher[1] festgestellte Tatsache, daß der Hund viel weniger zur Kumulation neigt als die Katze. Dosen, die 10% der letalen nicht überschreiten, bringen

einen nennenswerten kumulativen Effekt nicht mehr hervor. Die geringe Sensibilisierung, die bei der Nachtitration festzustellen war, geht kaum über den Streuungsbereich der Norm hinaus und kann daher nur als Andeutung eines kumulativen Effekts bewertet werden.

Eine funktionelle Beeinträchtigung der Herzleistung war daher auch nicht zu erwarten. Von Interesse ist aber der Umstand, daß am Tage nach der letzten Injektion noch eine gewisse Leistungssteigerung bei der Leistungsprüfung festzustellen war. Quantitativ betrachtet handelt es sich dabei freilich nur um einen kleinen Wirkungsrest, in dem nicht viel mehr als das Abklingen einer im Intervall der Einzeldosen vorhandenen positiven Wirkung auf die Kontraktilität zum Ausdruck kommt. Im Zusammenhang mit der Kumulationsfrage verdienen diese Beobachtungen Interesse, weil sie möglicherweise Auskunft geben können über die Dauer der Glykosidspeicherung im Herzen. Weese und Dieckhoff haben die sehr nachhaltigen systolischen Effekte am Katzenherzen auf Glykosidspeicherung bezogen. In unseren Versuchen spricht die Messung der Eliminationsgeschwindigkeit gegen die Annahme, daß am Ende von 24 Stunden beim Hunde noch ein Glykosidrest bei täglichen Gaben von 0,055 mg/kg Digitoxin vorhanden sein könnte. Diese müßten vielmehr innerhalb 5 bis 6 Stunden eliminiert sein. Nun ist aber gegen diese Betrachtungsweise einzuwenden, daß die Messung der Eliminationsgeschwindigkeit unter einer extremen Bedingung erfolgt, nämlich bei Belastung des Herzens mit hohen Glykosiddosen (Fromherz[18]). Auch Lendle macht darauf aufmerksam, daß die in jedem Augenblick aus dem Herzen verschwindende Glykosidmenge eine Funktion der gerade noch im Herzen vorhandenen Menge sein könnte, so daß im Bereich kleiner Glykosiddosen eine Verzögerung der Zerstörung eintreten müßte. So könnten also vielleicht doch kleinste Glykosidreste noch nach 20—24 Stunden im Herzen vorhanden sein.

Es ist aber völlig unwahrscheinlich, daß die mutmaßliche Verlangsamung der Giftelimination im Bereich kleiner Dosen so erheblich sein könnte, daß auch über 24 Stunden hinaus Glykoside persistieren würden. Damit entfällt auch die Möglichkeit einer substantiellen Kumulation. Auch unsere Leistungsversuche zeigen, daß nach 6mal wiederholter Digitoxinzufuhr am Ende eines Zeitraumes, der knapp dem Intervall der Einzelgaben entspricht, nur noch ein Wirkungsrest vorhanden ist, der, wenn überhaupt, auf so kleine Glykosidreste hindeutet, wie sie im Verhältnis zur hohen Vordosis an den vorausgehenden Tagen (insgesamt 60% der letalen Dosis) nicht ins Gewicht fallen können.

Es kommt noch hinzu, daß die gefundenen funktionellen Wirkungsreste gar nicht auf der Anwesenheit irgendwelcher, auch noch so kleiner Glykosidmengen

[18] Fromherz, K.: Klin. Wschr. **1937**, S. 662.

beruhen müssen, sondern auf sekundären Nachwirkungen*. Z. B. könnte es sich um die Folgen einer Erhöhung der Reservestoffe im Herzen handeln. Auf solche Möglichkeiten deuten gewisse Angaben in der Literatur hin wie diejenige von d'Alessandria[19], der bei Kaninchen nach Digitalis eine Mehreinlagerung von Glykogen im Herzen mit histochemischen Methoden fand. Lasch und Triger[20] erhielten nach wiederholter Vorbehandlung mit Strophanthin eine Vermehrung des Gesamtzuckers im Meerschweinchenherzen. Wir selbst haben durch chemisch-analytische Bestimmung des Herzglykogens im Taubenherzen hierüber Erfahrungen zu sammeln versucht. Bis jetzt konnten wir freilich erst nach ziemlich hohen einmaligen Dosen Digitoxin eine nachhaltige Glykogenvermehrung erzielen. Die Versuche sind daher noch nicht spruchreif.

Zusammenfassende Besprechung.

Wir haben versucht, einen Beitrag zur Klärung der Kumulationserscheinungen im Bereich kleiner Digitoxindosen zu liefern, indem wir nicht nur die Ergebnisse der Nachtitration berücksichtigten, sondern diese erweiternd, auch funktionelle Methoden (Leistungsprüfung) heranzogen. Besonderes Interesse brachten wir dabei der vergleichenden Prüfung zweier Tierarten (Katze und Hund) entgegen.

Bei täglichen Gaben, die unter 10% der letalen Dosis liegen, kommen nur bei der Katze noch Kumulationserscheinungen vor. Diese wurden schon von Lendle auf Schädigungen zurückgeführt. Unsere Befunde gestatten es, den Grad dieser Herzschädigung nach relativ kurzer Vorbehandlung im Verhältnis zu der durch sie herbeigeführten Glykosidüberempfindlichkeit genauer abzuschätzen.

Beim Hunde, der im gleichen Dosenbereich nicht kumuliert, haben wir nur fördernde Digitoxinwirkungen erfassen können. Doch dürfen wir hierin keinen grundsätzlichen Gegensatz zur Katze erblicken. Denn auch bei der Katze sind sowohl nach wiederholten kleinen Digipuratdosen (Schäfer) als auch nach einmaligen großen Digitoxindosen (Weese und Dieckhoff) leistungssteigernde Effekte als Nachwirkung beschrieben worden. Es besteht nur insofern ein Unterschied, als bei der Katze auch schon wiederholte kleine Dosen im Gegensatz zum Hunde das Herz im Zustand einer erhöhten Glykosidempfindlichkeit zurücklassen, was der Ausdruck kumulativer Digitalisvergiftung ist, mag diese zunächst auch noch von der systolischen Digitaliswirkung überdeckt sein. Dieser Gesichtspunkt erscheint uns nicht unwesentlich. Er deutet gewissermaßen

* Anmerkung bei der Korrektur: In einer soeben erschienenen Arbeit denkt auch Lindner (Naunyn-Schmiedebergs Arch. **192**, 163 (1939) an Nachwirkungen. Er erörtert die interessante Auffassung, daß vielleicht Leistungssteigerung und Herzschädigung zwei verschiedene Phasen eines einheitlichen Vorgangs sein könnten. Ein gewisser Grad von Kumulation könnte danach sogar erwünscht sein und liegt vielleicht der sogenannten „Digitalisierung" kranker Herzen zugrunde.

[19] d'Alessandria, E.: Fol. med. (It.) **18**, 1399 (1932). — [20] Lasch, F., u. K. Triger: Z. exper. Med. **88**, 588 (1933).

auf ein weitaus günstigeres Verhältnis von therapeutischer Wirkung und chronischer Toxizität (therapeutische Breite in einem übertragenen Sinne) beim Hunde als bei der Katze hin.

Wir wissen freilich, daß kumulative Schädigungen auch beim Hunde hervorzurufen sind. Es bedarf hierzu nur wesentlich höherer Dosierung. Wir werden also auch in dieser Hinsicht keinen grundsätzlichen Gegensatz zwischen Katze und Hund erblicken dürfen, sondern nur einen quantitativen Unterschied. Dieser hängt mit der unterschiedlichen Eliminationsgeschwindigkeit zusammen.

Wir sind heute noch nicht in der Lage, eine scharfe Abgrenzung der Glykosidgegenwart im Herzen von den funktionell oder anatomisch faßbaren Nachwirkungen vorzunehmen. Das erschwert noch immer eine endgültige Stellungnahme zur Frage der Kumulation von Substanz. Die Möglichkeit einer Addierung von Glykosidresten ist natürlich bei geeigneter Dosierung (hinsichtlich Größe und zeitlichem Abstand der Einzelgaben) gegeben. Sie kommt aber bei einem Intervall der Einzelgaben von 24 Stunden für Dosen von der Größenordnung, wie sie in dieser Arbeit berücksichtigt wurden, kaum in Betracht.

Das pharmakologische Problem der Digitaliskumulation hat im Laufe der Zeit auf die praktische Digitalistherapie mancherlei Auswirkungen gehabt, weshalb der Umschwung unserer Auffassungen auch für die Klinik bedeutungsvoll geworden ist. Um festzustellen, welche Stellung heute das Experiment für die Beratung der Klinik einnehmen könnte, war vor allem eine Vertiefung unserer Kenntnisse über die Wirkung kleiner Dosen notwendig, d. h. solcher Dosen, die dem therapeutischen Bereich mehr oder weniger naheliegen.

In der Ablehnung der nachhaltigen Glykosidspeicherung gehen heute Klinik und Experiment einig. Eine der wesentlichsten Auswirkungen der alten Hatcherschen These war bekanntlich die Durchführung der Digitalistherapie mit „full therapeutic doses" in Amerika (Eggleston[21]). Indem man den Menschen der Katze gleichsetzte, hoffte man auf diese Weise eine über lange Zeit anhaltende Glykosidspeicherung im Herzen zu erreichen. Heute müssen wir jedoch eine auch nur über wenige Tage anhaltende therapeutische Nachwirkung einer einzelnen Digitalisgabe auf mittelbare Digitaliswirkungen zurückzuführen (Edens[22]). Die Behandlung mit hohen Dosen erscheint daher von den ursprünglichen Gesichtspunkten aus nicht mehr begründet. Andererseits wird man auf Grund unserer heutigen Vorstellungen über das Wesen der Digitaliskumulation einer über längere Zeit fortgesetzten Behandlung mit hohen Dosen sogar nicht mehr unbedenklich zustimmen können. Weiß man doch, daß gerade aus Amerika die meisten Berichte über Digitalisnebenwirkungen (Erbrechen, negative T-Zacke, usw.) stammen.

---

[21] Eggleston, C.: J. amer. med. Assoc. **59**, 1352 (1912). — [22] Edens, E.: Klin. Wschr. **1936**, S. 1829; Münch. med. Wschr. **1938**, S. 1415.

Freilich bedarf die Frage, welche Gültigkeit die neuen Feststellungen über chronische Digitalisschäden im Experiment für den Menschen haben, noch einer genauen Prüfung. Daß hierbei die Dosenfrage eine große Rolle spielt, wurde schon angedeutet. Aber das Maß der Vorsicht, das in dieser Hinsicht geübt werden muß, ist kaum für den Menschen heute schon genau festzulegen. Nicht zuletzt ist daran die Tatsache schuld, daß wir noch nicht sicher wissen, welcher Tierart der Mensch sich am ähnlichsten verhält. Denn der Tierversuch hat erhebliche Unterschiede in der Erzeugbarkeit kumulativer Digitalisschäden zwischen den einzelnen Species aufgedeckt. Diese Unterschiede sind zwar nur quantitativ. Aber im Hinblick auf die praktischen Konsequenzen für den Menschen gewinnen sie grundsätzliche Bedeutung. Sicherlich werden in der Klinik weniger als 10% der letalen Dosis als Einzelgabe gegeben. In diesem Bereich kumuliert aber nur die Katze. Der Hund dagegen zeigt in diesem Bereich ein derart günstiges Verhältnis von therapeutischer zu kumulativer Digitaliswirkung, daß es von größter Bedeutung erscheint zu wissen, ob der Mensch wie die Katze oder wie der Hund reagiert. Es sprechen in der Tat manche Tatsachen dafür, daß die leichte Erzeugbarkeit kumulativer Schädigungen bei der Katze eine klinische Parallele nicht besitzt. Vor allem sei darauf hingewiesen, daß einwandfreie Beobachtungen über histologische Schädigungen durch die Digitalis auch nicht aus Amerika, wo hohe Dosen gegeben werden, trotz eifrigsten Suchens bekanntgeworden sind. Edens hat insbesondere auf Fälle von selbst jahrelanger ungestörter Digitalisverträglichkeit hingewiesen, wie ein solcher Fall schon im vorigen Jahrhundert von Kussmaul beschrieben worden ist.

Andererseits scheinen Dosen, die beim Hunde noch störungsfrei vertragen werden, doch sehr hoch zu liegen. Denn eine Dosis von 0,055 mg/kg, wie sie in unseren Versuchen verwendet wurde, würde für einen Erwachsenen von 70 kg 3,5—4 mg bedeuten! Vielleicht kommt man der Wahrheit am nächsten, wenn man dem Menschen eine Zwischenstellung zwischen Katze und Hund einräumt.

Man darf freilich nicht vergessen, daß sogenannte Kumulationserscheinungen ursprünglich in der Klinik beobachtet worden sind und daß diese erst den Anstoß zur experimentellen Forschung gegeben haben. Hier scheinen aber in der Tat noch Diskrepanzen in der Auffassung des Klinikers und Experimentators über das Wesen der Erscheinungen, die der Kliniker als Kumulation deutet, zu bestehen. Edens[22], freilich in erster Linie gestützt auf die Erfahrungen der Strophanthintherapie, sieht in ihnen Überempfindlichkeitsreaktionen des Herzens, bedingt durch primär vorhandene und nicht durch die Digitalis hervorgerufene örtliche Schädigungen. Solche Fälle würde man aber gesondert zu betrachten haben und nur diejenigen mit den Tierherzen vergleichen können, die diese örtlichen Schädigungen nicht aufweisen. Immerhin wäre es für Theorie und Praxis schon von großem Gewinn, wenn wenigstens für eine be-

sondere Gruppe von Patienten, bei denen die Bedingungen ähnlich wie im Experiment liegen, eine Entscheidung getroffen werden könnte, ob hier die Verwandtschaft zum Hunde- oder Katzenherzen größer ist. Das Experiment kann freilich letzten Endes nur die Vorarbeit leisten, indem es diese Tierarten untersucht. Die Entscheidung hat dann die Klinik zu treffen.

Zusammenfassung.

Es wird über vergleichende Untersuchungen an Katzen und Hunden berichtet, in denen zunächst die Wirkung wiederholter kleiner Digitoxingaben auf die Glykosidempfindlichkeit des Herzens (kumulative Wirkung) ermittelt wurde. Sodann wurde untersucht, ob und welche funktionellen Veränderungen sich an der Leistungsfähigkeit des Herzens (Druckleistung im Herzlungenpräparat) nach gleicher Vorbehandlung erfassen lassen. Die Ergebnisse sind:

I. Katze. a) 4—8malige tägliche subcutane Zufuhr von je 0,017 mg/kg Digitoxin = 5% der subcutan letalen Dosis läßt am Tage nach der letzten Injektion eine erhebliche Steigerung der Glykosidempfindlichkeit in Erscheinung treten (Bestätigung gleichlautender Befunde von Lendle). Die „Kumulationsreste" sind oft erheblich größer als es der Summe der vorverabreichten Dosen entspricht („überadditive Wirkung").

b) Die funktionelle Prüfung der in der gleichen Weise vorbehandelten Herzen ergibt bis zu einer etwa 6tägigen Dauer der Vorbehandlung keine erkennbare Abweichung der maximalen Kraftentfaltung von der Norm. Bei 8—9tägiger Vorbehandlung ist eine gewisse Tendenz zur Abnahme der Leistung zu erkennen, wobei freilich Ausnahmen vorkommen.

c) Schon bei 4maliger Vorbehandlung ist die Neigung zu Extrasystolen bei den digitalisierten Herzen erhöht, erkennbar in unseren Versuchen an einer verstärkten Bereitschaft zu den durch extreme Drucksteigerung auslösbaren Extrasystolen.

II. Hund. a) 6malige tägliche intravenöse Zufuhr von je 0,055 mg/kg Digitoxin = 10% der intravenös letalen Dosis führt zu einer mäßigen Steigerung der Glykosidempfindlichkeit, die nur 15% des normalen Strophanthintiters ausmacht.

b) Die funktionelle Prüfung der Herzen läßt am Tage nach der letzten Injektion eine etwas verbesserte Kontraktilität erkennen.

c) Auf Grund der Messung der Eliminationsgeschwindigkeit vermag der Hund etwa 0,01 mg/kg/Std. Digitoxin zu eliminieren, d. h. etwa 3—4mal rascher als die Katze.

Die Bedeutung dieser Befunde für das pharmakologische und klinische Kumulationsproblem wird diskutiert.

Aus der 1. Medizinischen Klinik der Universität Berlin.
(Direktor: Prof. Dr. R. Siebeck.)

Beitrag zum Wirkungsmechanismus des Azetylcholins.

Von

W. Riechert und W. Musehold.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 2. März 1939.)

In der vorliegenden Arbeit soll untersucht werden, ob die Nachwirkungszeit (NWZ) bei Azetylcholin-Dauerinfusionen von der Konzentration des zugeführten Azetylcholins abhängig ist. Zweitens wurden gleichzeitig mit Azetylcholin geringe Physostigminmengen infundiert, um dadurch die NWZ im Sinne einer Verlängerung zu beeinflussen.

Versuchsergebnisse.

Es wurden zuerst bei verschiedenen Konzentrationen von Azetylcholin Dauerinfusionen durchgeführt und aus den entstandenen Kurven die Wirkungsverhältnisse nach Absetzen der Infusion beobachtet. Wie Tabelle 1 angibt, wurde mit der Konzentration 1 γ/Min. begonnen und fortlaufend bis auf 100 γ/Min. gesteigert. Die Infusionszeit war bei den verschiedenen Konzentrationen nicht gleich, sondern variierte zwischen 5 und 25 Minuten. Selbst bei dem großen Unterschied in der Konzentration von 1 γ bis 100 γ Azetylcholin pro Minute bestand keine wesentliche Differenz in der NWZ. Die längste Nachwirkungszeit in der ersten Versuchsserie (siehe Tabelle 1) wurde bei 2 γ und 10 γ/Min. Azetylcholin, Infusionszeit 16 Minuten, beobachtet. Sie betrug in allen drei Fällen 2 Minuten. Als durchschnittliche NWZ von 12 Dauerinfusionen verschiedener Konzentration

Tabelle 1.

Azetylcholin-Konzentration in γ/Min.	Dauer der Infusion in Min.	Sek.	Gesamt-Azetylcholin-menge in γ	Blutdruck-senkung in mm Hg	Nachwirkungszeit in Min.	Sek.
1	20	40	20,33	30	1	20
2	25		50	44	2	—
4	20		80	50	1	50
5	18		90	52	1	30
10	20		200	58	2	—
20	16		320	60	2	—
40	5		200	70	1	20
45	10		450	70	—	40
50	12		600	50	—	50
60	10		600	70	1	20
80	6		480	70	1	—
100	8		800	75	1	20

und Infusionszeit konnte 1 Minute 25 Sekunden errechnet werden. Danach kann angenommen werden, daß die NWZ von der Konzentration unabhängig ist. Diese Behauptung gründet sich außerdem auf die Beobachtung, daß bei größeren Konzentrationen gegenüber geringeren in der gleichen Versuchsserie die NWZ kürzer war; denn diese betrug z. B. bei 100 γ/Min. 1 Minute 20 Sekunden; bei 2 γ/Min. 2 Minuten. Das Maximum der NWZ war also nicht bei der größten Konzentration vorhanden.

In der nächsten Versuchsserie wurde die Konzentration des Azetylcholins konstant gehalten (20 γ/Min.), während die Infusionszeit von 5 auf 30 Minuten gesteigert wurde. Auch hier verhielt sich die NWZ ziemlich konstant. Bei 20 γ/Min., Infusionszeit 25 und 30 Minuten, überschritt die NWZ die 2 Minuten-Grenze und betrug 2 Minuten 20 Sekunden und 2 Minuten 10 Sekunden (Tabelle 2). Die NWZ verhielt sich also bei gleichbleibender Konzentration aber verschiedener Infusionszeit ähnlich wie bei verschiedener Konzentration von Azetylcholin.

Tabelle 2.

Azetylcholin-Konzentration in γ/Min.	Dauer der Infusion in		Gesamt-Azetylcholin-menge in γ	Blutdruck-senkung in mm Hg	Nachwirkungszeit in	
	Min.	Sek.			Min.	Sek.
20	5	—	100	60	1	10
20	10	—	200	70	1	10
20	15	—	300	60	1	—
20	20	—	400	70	1	50
20	25	—	500	64	2	20
20	30	—	600	60	2	10

Der Durchschnittswert der NWZ der ersten Versuchsserie, verglichen mit dem der zweiten, war fast gleich. Hier betrug er 1 Minute 20 Sekunden. Eine Abhängigkeit der NWZ bei gleichbleibender Konzentration von der Infusionszeit konnte nicht bestätigt werden.

Die dritte Versuchsserie (Tabelle 3) zeigt bei einer Konzentration von 4,5 γ/Min. und verschiedener Infusionszeit ähnliche Verhältnisse wie Tabelle 2. Der Durchschnittswert betrug 1 Minute.

Tabelle 3.

Azetylcholin-Konzentration in γ/Min.	Dauer der Infusion in		Gesamt-Azetylcholin-menge in γ	Blutdruck-senkung in mm Hg	Nachwirkungszeit in	
	Min.	Sek.			Min.	Sek.
4,5	7	18	33,1	75	1	20
4,5	6	48	30,6	45	—	55
4,5	7	—	31,5	50	1	05
4,5	8	21	37,5	50	1	—

Zusammenfassend ist zu sagen, daß die NWZ von Azetylcholin durch Konzentrationssteigerung oder andererseits durch Steigerung der Infusionszeit bei gleichbleibender Konzentration nicht zu beeinflussen ist.

Diese Beobachtung erfordert einen Vergleich mit den Messungen bei Einzelinjektionen. Auch hier konnte eine längere Wirkung durch steigende Konzentrationen nicht erreicht werden. Bei Einzelinjektionen von Azetylcholin ist der Wirkungscharakter durchaus flüchtig. Nach der sich sofort nach der Injektion einstellenden Blutdrucksenkung erfolgt innerhalb einer kurzen Zeit die Einstellung zur normalen Blutdruckhöhe. Die Zeitspanne vom tiefsten Punkt der Senkung bis zum Wiedererreichen der Ausgangshöhe bewegte sich um 1 Minute. Selbst geringe Konzentrationen wie 0,5 nehmen diesen Wert an (siehe Tabelle 4).

Tabelle 4.

Azetylcholin-Konzentration in γ	Dauer der Blutdrucksenkung in Min.	Sek.	Azetylcholin-Konzentration in γ	Dauer der Blutdrucksenkung in Min.	Sek.
0,5	—	58	1,0	—	56
0,5	—	55	5,0	1	—
0,5	—	50	10,0	1	18
1,0	1	—	20,0	1	15

Um die Beeinflußbarkeit der Azetylcholinwirkung in bezug auf den Blutdruck durch andere Pharmaca zu studieren, ist es notwendig, die Art der Wirkung der einzelnen Pharmaca auf den Blutdruck zu prüfen. Das bekannteste Hemmungsmittel der Cholinesterase ist das Physostigmin. Es wurden deshalb Einzelinjektionen und Dauerinfusionen mit Physostigmin durchgeführt. Es hat sich gezeigt, daß geringe Konzentrationen wie 1 γ Physostigmin eine zwar flüchtige aber deutliche Blutdrucksenkung hervorrufen. Diese Senkung ist aber wesentlich unterschieden von der durch Azetylcholin hervorgerufenen. Das Senkungsniveau von Azetylcholin ist ein tieferes, deshalb braucht der Blutdruck etwas längere Zeit, um sich auf das Anfangsniveau wieder einzustellen. Die Konzentration scheint beim Physostigmin keinen Einfluß auf die Wirkungszeit zu haben.

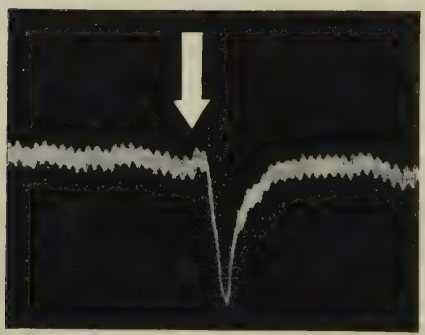


Abb. 1. Einzelinjektion von Azetylcholin 1 γ.

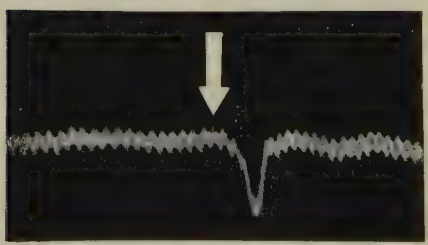


Abb. 2. Einzelinjektion von Physostigmin 1 γ.

Weiterhin wurde versucht, die NWZ durch das Esterasehemmungsmittel Physostigmin bei gleichzeitiger Infusion mit Azetylcholin zu verlängern. Die Physostigmindosen wurden möglichst niedrig gehalten. Zu

diesem Zwecke wurde eine Dauerinfusion mit einer konstanten Azetylcholindosis, deren isolierte Wirkung und Nachwirkungszeit man durch entsprechende Vorversuche genau kannte, durchgeführt.

Die Konzentration des Azetylcholins betrug bei den Kombinationsversuchen 10 γ/Min. Bei 10 γ Azetylcholin und 10 γ Physostigmin pro Minute, Infusionszeit 8 Minuten 15 Sekunden, unterschied sich die NWZ nicht von der üblich zu erwartenden. Sie betrug in diesem Falle 56 Sekunden. Der Blutdruck war um 75 mm Hg gesenkt. Insgesamt wurden während dieser Zeit 80 γ Physostigmin zugeführt. Die erste merkliche Verlängerung der NWZ konnte bei 36,4 γ/Min. Physostigmin (2 Minuten 36 Sekunden Infusionszeit) beobachtet werden. Sie betrug hier 2 Minuten 49 Sekunden. Bei 57,6 γ/Min. Physostigmin (Infusionszeit 2 Minuten 36 Sekunden), war die NWZ 3 Minuten 12 Sekunden. Die zugeführte Physostigminmenge betrug 150 γ. Bei einer Dauerinfusion von längerer Infusionszeit (8 Minuten 7 Sekunden) betrug die NWZ 6 Minuten 5 Sekunden. 400 γ Physostigmin wurden während dieser Infusion zugeführt.

Besprechung der Versuchsergebnisse.

Der Wirkungsmechanismus des Azetylcholins wird nach dem Straubschen Potentialwirkungsgesetz erklärt. Die Spaltung des Azetylcholins in Cholin und Essigsäure wird durch die Cholinesterase bewirkt.

Bei Reizung des N. Vagus wird an den Nervenendigungen Azetylcholin frei, wodurch ein Zustrom von Azetylcholin zur Zelle hin stattfindet. Die dauernde Zerstörung vermittels der Cholinesterase erzeugt ein Potentialgefälle, welches gleich Null wird, wenn Zustrom und Zerstörung sich das Gleichgewicht halten; damit erlischt auch die Wirkung. Dieses Potentialgefälle wird durch die Esterase gesteuert, d. h. bei einem andauernden Zustrom von Azetylcholin wird durch die Esterase über die Zerstörung die Wirkung aufrechterhalten. Bei kleinen Azetylcholinmengen tritt wohl eine Verseifung ein, deren geringer Wirkungsgrad aber nicht ausreicht, eine Blutdrucksenkung hervorzurufen, d. h. die Wirkungsschwelle des Azetylcholins wird nicht erreicht. Nach den Arbeiten von Zinnitz und Gremels liegt diese Wirkungsschwelle bei 0,01 γ/Sek. und erreicht ein Maximum bei 0,1 γ/Sek. oder 7—10 γ/Min.

Die Hauptwirkung der Potentialgifte, also auch des Azetylcholins, fällt in die Einmarschphase des Wirkungsstoffs, während nach erfolgter Absättigung der Zelle mit dem Gift, dieses keine Wirkung mehr hervorbringen kann. Das ruhende Gift führt zu einer Zustandsänderung des Substrats und damit zu einer veränderten Erregbarkeit der Zelle.

Die Versuche über die Nachwirkungszeit haben gezeigt, daß diese bei verschiedenen Konzentrationen nahezu konstant ist. Bei den durchgeführten Dauerinfusionen muß als durchschnittliche NWZ die 2 Minuten-Grenze angesehen werden. Wird die Konzentration gleich gehalten,

dagegen die Infusionszeit variiert, so bewegt sich die NWZ ebenfalls innerhalb der angegebenen Zeit.

Während Zinnitz und Gremels die Nachwirkungszeit von der Konzentration abhängig machen, konnten diese Ergebnisse nicht bestätigt werden. Eine NWZ von 3 Minuten und darüber hinaus wurde in unseren Versuchen nicht beobachtet; dagegen wurde bei einigen hohen Konzentrationen eine kürzere NWZ festgestellt, als bei geringeren. Es besteht keine proportionale Steigerung bei höheren Konzentrationen gegenüber geringeren. Die Gesamtmenge des zugeführten Azetylcholins hat also keinen Einfluß auf die Nachwirkungszeit.

Durch eine Dauerinfusion von Azetylcholin kann oberhalb der Wirkungsschwelle eine Dauersenkung des Blutdrucks erzielt werden. Unterhalb des Wirkungsmaximums liegende Azetylcholinmengen rufen bei Steigerung der Konzentration eine stärkere Blutdrucksenkung hervor; oberhalb des Wirkungsmaximums liegende Azetylcholinmengen bewirken maximale Blutdrucksenkung, dagegen keine Verlängerung der NWZ.

Da die vorhergehenden Versuche die Unbeeinflußbarkeit der NWZ durch Konzentrationserhöhung gezeigt haben, kann angenommen werden, daß beim Wirkungsmaximum die Zelle einen gewissen Sättigungsgrad durch das Azetylcholin erreicht hat. Die darüber hinaus noch vorhandene Menge wird wohl durch die Cholinesterase zerstört, hat jedoch nicht die Möglichkeit, auf die Zelle einzuwirken, da diese nur imstande ist, die Maximaldosis zu verarbeiten. Aus diesem Grunde tritt keine Erhöhung der Wirkungsintensität ein. Es ist deshalb im Augenblick des Absetzens der Dauerinfusion trotz übermäßiger Zufuhr kein wirkungsfähiges Azetylcholin mehr vorhanden. Dafür spricht die konstante NWZ. Im anderen Falle müßte die Nachwirkungszeit nach Erhöhung der Konzentration oberhalb des Wirkungsmaximums proportional der Zufuhr ansteigen.

Wenn die Cholinesterase durch Physostigmin gelähmt ist, muß sich bei Azetylcholindauerinfusionen eine verlängerte Nachwirkungszeit ergeben. Es findet auch unter Physostigminisierung eine Spaltung des Azetylcholins in Cholin und Essigsäure statt, die aber zeitlich langsamer verläuft. Daher ist beim Absetzen der Dauerinfusion noch ungespaltenes Azetylcholin vorhanden, das später zerstört wird und eine Verlängerung der NWZ bewirkt. Physostigmin verzögert also die Verseifungsgeschwindigkeit des Azetylcholins. Es besteht eine Beziehung zwischen zugeführter Physostigminkonzentration und Inaktivierung der Esterase, in dem Sinne, daß bei steigender Physostigminkonzentration die Inaktivierung der Esterase schneller vor sich geht und vollständiger wird. Eine Steigerung der Wirkungsintensität durch Physostigmin kann aber nicht erreicht werden. Pro kg Tiergewicht müssen nach Ansicht anderer Autoren 30 γ Physostigmin gegeben werden, um eine Lähmung der Esterase herbeizuführen. Unsere Versuche haben ergeben, daß bei gleichzeitiger Infusion von Azetylcholin und Physostigmin schon eine geringere Physostigmin-

menge ausreicht, um eine verlängerte NWZ zu erzielen. Sie betrug 13,5 γ/kg bei einer Dauerinfusion von 2 Minuten 36 Sekunden Infusionszeit und einer NWZ von 2 Minuten 49 Sekunden. Durch Steigerung der Physostigminkonzentration bei gleicher Infusionszeit wird die Nachwirkungszeit noch mehr verlängert.

Bei Betrachtung der Blutdruckkurve nach dem Absetzen der Dauerinfusion fällt auf, daß der Blutdruck zunächst ein Stück steil ansteigt, um sich dann langsam der Norm zu nähern. Danach zu urteilen, wird nur ein bestimmter Prozentsatz der Esterase gelähmt, denn bei vollständiger Lähmung müßte sich der Blutdruck längere Zeit auf dem Senkungsniveau halten und erst später beim Nachlassen der Physostigminwirkung langsam zur Ausgangshöhe ansteigen.

Die Versuche mit Azetylcholin und Physostigmin bestätigen die Annahme, daß auf die Zelle nur die Menge des Wirkungsmaximums einwirken kann, während die darüber hinaus noch vorhandene Azetylcholinkonzentration wohl dem Verseifungsprozeß unterworfen wird, aber wegen Blockierung der Zelle durch die Maximaldosis auf diese nicht einwirken kann. Bei Physostigminisierung muß im Augenblick des Absetzens der Dauerinfusion noch unzerstörtes Azetylcholin vorhanden sein, da die gelähmte Esterase nicht fähig ist, alles Azetylcholin sofort zu verseifen, sondern dieser Prozeß fällt in die Nachwirkungsphase und drückt sich in einer verlängerten Nachwirkungszeit aus.

Zusammenfassung.

1. Die NWZ ist bei Azetylcholindosen oberhalb des Wirkungsmaximums unabhängig von der Konzentration.

2. Durch Physostigmin findet keine vollständige, sondern nur eine partielle Lähmung der Cholinesterase statt.

Das Azetylcholin wurde uns für unsere Versuche freundlicherweise von der Firma Hoffmann-La Roche zur Verfügung gestellt, das Physostigmin von der Firma C. H. Boehringer & Sohn A. G.

Literatur.

Kretschmer, W.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **57**, 423 (1907). — Schlossmann, H.: Ebenda **138**, 142 (1928). — Schretzenmayr, A.: Ebenda **152**, 210 (1930). — Feldberg, W., u. Minz: Ebenda **163**, 66 (1932). — Feldberg, W., u. Minz: Ebenda **165**, 261 (1932). — Gutmann, P.: Ebenda **166**, 612 (1932). — Heller, H., u. G. Kusunoki: Ebenda **173**, 301 (1933). — Hauschild, Fr., u. L. Lendle: Ebenda **178**, 367 (1935). — Gremels, H., u. Zinnitz: Ebenda **179**, 229 (1935). — Krayer, O., u. E. B. Verney: Ebenda **180**, 75 (1936). — Gaddum, J. H., u. Dale: Gefäßerweiternde Stoffe der Gewebe. Leipzig, Verlag Georg Thiem, 1936. — Gremels, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **188**, 1 (1938). — Zinnitz, F.: Ebenda **188**, 328 (1938).

Aus der Inneren Abteilung des Gertraudenkrankenhauses zu Berlin-Wilmersdorf.
(Leiter: Prof. Dr. S. Lauter.)

Kohlehydratumsetzungen im entnervten Fettgewebe.

Von

F. X. Hausberger und **N. Neuenschwander-Lemmer.**

(Eingegangen am 20. April 1939.)

Die Fähigkeit der Fettsynthese aus Kohlehydraten im tierischen Organismus gehört zu den gesicherten Ergebnissen der Stoffwechselphysiologie. Schon frühzeitig konnte die Leber als die Hauptstätte dieser Umwandlung ausgeschlossen werden. Bleibtreu (1) fand 1901, daß das Blut kohlehydratgemästeter Gänse sehr fettarm ist; Rosenfeld, Best, Cannon und Ridout (2) stellten fest, daß nach Fütterung mit Kohlehydraten in der Leber wohl der Gehalt an Glykogen, nicht aber der an Fett ansteigt und zogen daraus den Schluß, daß nicht die Leber der Ort der Fettbildung ist, sondern wahrscheinlich das Fettgewebe selbst.

Diese Vermutung wurde wenige Jahre später durch Feststellungen von Anatomen unterstützt. Im Jahre 1907 wies von Gierke (3) darauf hin, daß im Fettgewebe selbst unter bestimmten Bedingungen (mit histologischen Methoden) Glykogen nachgewiesen werden kann. Im normalen oder Hungerzustand war das Gewebe frei von Glykogen, es fand sich jedoch in großen Mengen bei Tieren, die vorher gehungert hatten und dann mit Kohlehydraten aufgefüttert worden waren. Diese Feststellung wurde von Arndt (4) sowohl im Selbstversuch wie an anderen Tieren auch mit chemischen Methoden bestätigt. Er fand bis 7,4%, Hoffmann und Wertheimer (5) bis 6% dieses Polysaccharids bei der Wiederauffütterung in den Fettlagern. Mit Mikromethoden wurde später gezeigt, daß in den Depots stets Glykogen vorhanden ist und bestätigt, daß dessen Menge abhängig ist von der Art der Ernährung (6). Das Maximum findet sich stets nach einer Wiederauffütterung mit Kohlehydraten (7).

Der Übergang von Zucker zu Fett drückt sich in einer charakteristischen Veränderung des respiratorischen Quotienten aus. Bei Verbrennung von Fett, Eiweiß oder Kohlehydraten bewegt er sich zwischen 0,7 und 1,0. Ein Anstieg über 1 erfolgt bei Umwandlung von Zucker zu Fett, da ja hierbei Sauerstoff frei wird. Der respiratorische Quotient kann somit Auskunft geben über die jeweilige Stoffwechsellage des Gesamtorganismus oder eines isolierten Organs. Die für die Kohlehydrat-Fettsynthese charakteristischen Werte über 1 wurden in Versuchen am Schwein tatsächlich gefunden (bis 1,58). Beim jungen wachsenden Tier können bis 125 g Fett aus Kohlehydraten täglich entstehen (8). Es wurde nun von verschiedenen Untersuchern festgestellt, daß auch das isolierte Fettgewebe, dessen respira-

torischer Quotient bei normaler Ernährung unter 1 liegt, nach Kohlehydratmästung einen Anstieg bis 1,4 zeigen kann (9). Die Fähigkeit der lokalen Fettsynthese in den Fettdepots kann also heute als erwiesen gelten.

In allen Organismen erfolgen die assimilatorischen und dissimilatorischen Umsetzungen mit Hilfe der Fermente. In den Fettlagern wurden bisher gefunden eine Diastase, Lipase, Phosphatase und Dehydrase (10). Von Scoz (11) konnte der wichtige Befund erhoben werden, daß die Art und Menge bestimmter Fermente von dem jeweiligen Funktionszustand abhängig ist. Die lipolytische Fähigkeit des Fettgewebes ist am größten im Hunger, die kohlehydratspaltende bei Wiederauffütterung mit Zuckern. Eine Diastasevermehrung in den Depots kann als sicheres Zeichen einer vermehrten Synthese zu Fett aus Kohlehydraten angesehen werden.

Das gleiche quantitative Verhalten wie die Fermente des Fettgewebes zeigen auch die des Blutes, so daß aus deren Vorkommen in den Depots allein nicht entschieden werden kann, ob es sich hier nicht um Blutfermente handelt. Da aber weiter festgestellt werden konnte, daß nach Neurotomie- bzw. Sympathikotomie in den zugehörigen Fettlagern zugleich mit einem lokalen vermehrten Kohlehydrateinstrom auch eine lokale Vermehrung der Gewebsdiastase eintritt, so muß angenommen werden, daß dieses Ferment — ebenso wahrscheinlich wie auch die anderen, im Fettgewebe selbst gebildet wird (12). In der ersten Zeit nach der Nervenausschaltung erfolgt im Fettgewebe zunächst ein Wassereinstrom, anschließend die Glykogen-, Diastase- und Fettvermehrung (13). Für die Ablagerung resorbierten Nahrungsfettes im entnervten Gewebe konnte gezeigt werden, daß sie zweiphasisch verläuft (14). In einer ersten Periode ist sie erhöht, es wird mehr Fett gespeichert und weniger abgegeben wie normal, in einer zweiten Periode ist die Abgabefähigkeit ebenfalls herabgesetzt, zugleich aber auch die vorher gesteigerte Ablagerung vermindert. In dieser Arbeit soll nun untersucht werden, ob auch die Kohlehydrat-Fettsynthese ein ähnliches Verhalten aufweist.

Experimenteller Teil.

Methodisches.

Zu diesen Untersuchungen benutzten wir wieder den kleinvakuoligen braunen Scapularfettkörper der Maus. Diese Depots sprechen sehr schnell auf die Neurotomie an, verhalten sich jedoch auf die Entnervung wie das übrige Fettgewebe. Sie liegen paarig symmetrisch zwischen den Schulterblättern, haben annähernd gleichen Fett-, Trockensubstanz-, Wasser-, Glykogen- und Fermentgehalt. Als Ausgangsmaterial für die Fermentgewinnung benutzten wir fettfreie Trockensubstanz von mehreren linken und rechten bzw. normalen und entnervten Fettlagern. Die beiden symmetrischen Depots wurden während des ganzen Präparationsganges vollständig gleich behandelt.

Die Fermentgewinnung geschah in der früher beschriebenen Weise. 20 mg Trockensubstanz wurden mit Quarzsand 10 Minuten zerrieben, mit 2 ccm Glycerin 48 Stunden im Schüttelthermostat bei 37° belassen, dann wurde abgenutscht. Die diastatische Wirkung von 10 mg bzw. 1 ccm Extrakt wurde an der stärkespaltenden Fähigkeit bei 37° durch die Menge der auftretenden reduzierenden Substanzen mit der Zuckermethode nach Fujita und Danzo bestimmt. Die Werte der Leerversuche ohne Ferment wurden von denen des Hauptversuchs abgezogen. Der Ansatz der Versuchslösung war jeweils gleich und bestand aus 1 ccm Glycerinextrakt (= 10 mg Trockensubstanz), 0,6 ccm Phosphatpuffer m/15, p_H 6,8, 0,2 ccm 1%ige NaCl-Lösung und 8 ccm 0,3%ige frischbereitete Stärkelösung (Merck). Die Bestimmung der reduzierenden, fermentativ gebildeten Substanzen erfolgte sofort nach dem Ansatz und weiter nach 1, 2, 3 und mehr Stunden.

Die Zunahme der Gewebsdiastase unmittelbar nach der Neurotomie bis zum 3. Tag wurde bereits früher beschrieben, ebenso die Veränderungen im Frischgewicht, Fett-, Wasser- und Trockensubstanzgehalt. In den ersten Tagen sind im entnervten Fettgewebe die fermentativen Umsetzungen bzw. die Kohlehydratfettsynthese um das etwa 2—5fache gegenüber der Norm gesteigert. Die vorliegenden Untersuchungen wurden nun an Tieren ausgeführt, die 10—50 Tage nach der einseitigen Denervation getötet worden waren.

Versuch 1. Die entnervten Fettlager von 8 Mäusen, die zusammen vor 10 Tagen operiert worden waren, zeigten gegenüber den symmetrischen normalen Depots eine Vermehrung des Frischgewichtes um 15%. Der Fettgehalt war um 24% angestiegen. Wasser und fettfreie Trockensubstanz waren relativ weniger geworden. Im Ansatz der Fermentreaktion des normalen Gewebsextraktes wurde in 5 Stunden eine Zunahme von reduzierenden Substanzen beobachtet, die einem Glucoseäquivalent von 19,8 mg% entsprach. Im Ansatz des operierten Gewebes eine solche von 31,5 mg%. Die diastatische Wirkung ist also im nervenlosen Gewebe um 59% vermehrt (Tabelle 1 und 2).

Tabelle 1. Frischgewicht (Frg.), Fett (F.), Wasser (W.), fettfreie Trockensubstanz (Tr.) und Glykogengehalt (Gl.) im normalen (norm.) und entnervten (entn.) Fettgewebe in mg und % des Frischgewichtes, 10 Tage nach der Operation.

	Frg.	F.	W.	Tr.
Norm.	548	334	164	50 mg
		61	30	9 %
Entn.	629	414	166	49 mg
		66	26	8 %

Tabelle 2. Diastaseansatz zu Versuch 1 (= Tabelle 1). Die Zahlen geben den gefundenen Reduktionswert in mg% als Glucoseäquivalent nach verschiedenen Stunden (h) an.

	0	1h	2h	3h	5h
Norm.	0	3,0	9,4	12,4	19,8 mg%
Entn.	0	8,2	19,5	25,4	31,5 mg%

Versuch 2. Eine nächste Tierserie bestand aus 15 Mäusen, die 13 Tage nach der Denervierung untersucht wurden. Die Veränderungen im Gewicht und in der Zusammensetzung der Fettlager waren ähnlich wie bei den eben beschriebenen Tieren. Die Fermentzunahme nach 5 Stunden war 62 % (Tabelle 3 und 4).

Tabelle 3. 13 Tage nach der Operation ♀. Beschriftung wie Tabelle 1.

	Frg.	F.	W.	Tr.	Glyk.
Norm.	771	353	323	95	0,523 mg
		46	42	12	0,068 %
Entn.	863	441	317	105	0,456 mg
		51	37	12	0,053 %

Tabelle 4. Diastaseansatz zu Versuch 2 (= Tabelle 3).

	0	1^h	2^h	3^h	5_h
Norm.	0	4,2	9,0	12,7	21,0 mg%
Entn.	0	9,6	17,2	20,9	33,9 mg%

Versuch 3 und 4. Zwei weitere Tiergruppen waren 22 Tage (3) und 32 Tage (4) nach der Operation getötet worden. Es fand sich wieder eine deutliche Zunahme des Frischgewichtes und Fettes. Die prozentuale Wassermenge und die Trockensubstanz war weniger geworden. Der Glykogengehalt lag innerhalb der natürlichen Schwankungsbreite, die nach früheren Untersuchungen bis 30 % beträgt. Die Diastase war zu diesem Zeitpunkt in den normalen wie in den operierten Lagern in gleicher Menge vorhanden. In Tabelle 5 und 6 sind nur die Werte für die aus 22 Tieren bestehende Gruppe 3 angegeben, für Gruppe 4 waren sie ähnlich.

Tabelle 5. 22 Tage nach der Operation.

	Frg.	F.	W.	Tr.	Glyk.
Norm.	1048	586	345	115	2,3 mg
		51	38	11	0,22 %
Entn.	1275	846	314	113	2,3 mg
		66	25	9	0,16 %

Tabelle 6. Diastaseansatz zu Versuch 3 (= Tabelle 5).

	0	1_h	2_h	3^h	5^h
Norm.	0	6,0	13,0	18,5	28,4 mg%
Entn.	0	4,9	10,3	17,1	28,2 mg%

Versuch 5 und 6. Die Ergebnisse dieser beiden Versuchsreihen, die an je 7 Mäusen gewonnen waren, die 40 und 50 Tage nach der Operation lebten, verhielten sich nun bezüglich der Fermentreaktion gerade umgekehrt wie die der ersten (1 und 2) Versuchsansätze. Beide Male war in dem entnervten Gewebe weniger Diastase nachzuweisen wie im normalen. Bei der 5. Serie betrug die Verminderung 16 % (Tabelle 7), bei der letzten 21 % (Tabelle 9). Die Gewichts- und Fettvermehrung in Versuch 6 war 33 % bzw. 61 %, Wasser und Trockensubstanz zeiten eine geringe absolute Zunahme, aber eine relative Abnahme (Tabelle 8).

Bei diesem letzten Versuch konnten wir eine früher bereits erwähnte Beobachtung über die Regeneration der Nerven der Fettlager bestätigen (15). Wir hatten ursprünglich 11 Mäuse operiert und diese Tiere an einem Tage getötet. Von diesen 11 zeigten nur 7 eine Gewichtsvermehrung des ent-

Tabelle 7.
Diastaseansatz zu Versuch 5.

	0	1h	3h	4h	6h
Norm.	0	7,5	22,6	27,4	35,4 mg%
Entn.	0	6,6	17,9	21,1	30,2 mg%

Tabelle 8.
50 Tage nach der Operation.

	Frg.	F.	W.	Tr.
Norm.	348	174	132	42 mg
		50	38	12 %
Entn.	461	277	140	44 mg
		60	30	9,5 %

Tabelle 9. Diastaseansatz zu Versuch 6 (= Tabelle 8).

	0	1h	2h	3h	5h
Norm.	0	4,0	10,4	14,6	23,8 mg%
Entn.	0	3,9	7,9	11,2	19,4 mg%

nervten Depots, bei den übrigen war das Gewicht der beiderseitigen Lager gleich groß. Das Gewebe dieser Tiere wurde zu den Diastaseversuchen nicht benutzt, da mit größter Wahrscheinlichkeit die durchtrennten Nerven ebenfalls wieder regeneriert waren und damit die ursprünglich vorhandenen Verhältnisse wiederhergestellt wurden. Die Nerven waren bestimmt durchschnitten worden und bei den zahlreichen von uns bisher untersuchten Tieren in den ersten Wochen nach der Operation war stets eine Gewichtszunahme festgestellt worden. Es muß also eine Regeneration der durchschnittenen Nerven erfolgt sein.

Besprechung der Ergebnisse.

Für die direkte Aufnahme von Nahrungsfett aus der Blutbahn konnten wir zeigen, daß sie dem entnervten Fettgewebe zweiphasisch verläuft: In einer ersten Periode ist sie gegenüber der Norm gesteigert, in einer zweiten dagegen herabgesetzt. Da nun eine Diastasevermehrung im Fettgewebe eine lokale gesteigerte Kohlehydrat-Fettsynthese aufzeigt, muß angenommen werden, daß auch die Fettsynthese ein solches Verhalten aufweist. In den ersten Tagen nach der Operation ist die Gewebsdiastase besonders stark — um 200—500 % — vermehrt. Nach 10—20 Tagen ist diese erhöhte Aktivität schon bedeutend abgesunken (auf etwa + 60 %), dann folgt eine Zeit, in der die beiderseitige fermentative Tätigkeit gleich groß ist, und schließlich wird sie sogar geringer. Ein paralleles Verhalten dazu weist die Gewichts- und Fettvermehrung auf. Sie ist in den ersten Tagen nach der Operation besonders beschleunigt und wird dann zusehends langsamer. Nach einer gewissen Zeit — etwa 3 Wochen — ist eine Zunahme bei der Mehrzahl der Tiere nicht mehr oder nur in sehr geringem Maße feststellbar, die Fettaufnahme und — wie wir jetzt zeigen konnten — Synthese ist aber herabgesetzt. Da jedoch gleichzeitig auch die Abgabefähigkeit der entnervten Lager vermindert ist, die Reserven schwerer mobilisierbar sind, so kann trotz einer lokalen Einschränkung der Umsetzungen eine weitere vermehrte Fettspeicherung im entnervten Depot erfolgen, eben weil trotz verminderter Einnahmen die Ausgaben noch stärker herabgesetzt sind. Dieser zweiseitige Modus einer Fettvermehrung

braucht selbstverständlich nicht immer vorhanden zu sein. Es ist ebensogut nur die erste Phase denkbar, daß also die Aufnahme und Synthese gesteigert ist, mit oder ohne Verminderung der Abgabefähigkeit.

Zusammenfassung.

Am denervierten interscapularen Fettkörper der Maus wurde festgestellt, daß

1. in einer ersten Phase der Diastasegehalt vermehrt ist, dann normal wird und
2. in einer zweiten Phase vermindert ist.

Da eine lokale Vermehrung der Fettgewebsdiastase mit größter Wahrscheinlichkeit eine gesteigerte lokale Kohlehydrat-Fettsynthese bedeutet, kann angenommen werden, daß auch die Fettsynthese im entnervten Fettlager das gleiche zweiseitige Verhalten aufweist.

Literatur.

1) Bleibtreu: Pflügers Arch. **85**, 364 (1901). — 2) Rosenfeld: Erg. Physiol. usw. **2**, 80 (1903); Best, Cannon u. Ridout: J. Physiol. (Brit.) **81**, 409 (1934). — 3) Gierke, v.: Verh. Ges. Dtsch. Naturforscher, 78. Vers. **1907**, 2/2. — 4) Arndt: Verh. dtsch. path. Ges., 21. Tg. **1926**. — 5) Hoffmann u. Wertheimer: Pflügers Arch. **217**, 729 (1927). — 6) Scoz: Boll. Soc. ital. Biol. sper. **4**, 1158 (1929); Wetzel, Wollschitt, Ruska u. Oestreicher: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **179**, 86 (1935); Hausberger u. Guyot: Ebenda **187**, 647 (1937). — 7) Scoz: Boll.Soc. ital. sper. **5**, 479 (1930); Wetzel, Wollschitt, Ruska u. Oestreicher: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **181**, 703 (1936); Wetzel u. Heid: Ebenda **181**, 689 (1936). — 8) Wierzuchowski u. Ling: Ital. Biol. Chem. **64**, 697 (1925). — 9) Quagliariello u. Scoz: Boll. Soc. ital. Biol. sper. **5**, 1117 (1930); Scoz: Arch. Sci. Biol. **17**, 262 (1932); Ruska u. Quast: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **179**, 217 (1935); Henle u. Spingier: Ebenda **180**, 673 (1936); Felix u. Eger: Arch. klin. Med. **182**, 623 (1938); Eger: Verh. Ges. Verdgskrkh. **1938**, 14. Tg. — 10) Hausberger: Arch. exper. Zellforschg.; dort Literatur. — 11) Scoz: Arch. Sci. biol. (It.) **18**, 385 (1933). — 12) Hausberger: Z. exper. Med. **162**, 169 (1937). — 13) Hausberger u. Guyot: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **187**, 655 (1937). — 14) Hausberger: Ebenda **192**, 70 (1939). — 15) Hausberger: Z. mikrosk.-anat. Forsch. **36**, 231 (1934).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin.

Über den Einfluß des Wassers und des Novasurols auf den Hormongehalt des Hypophysenhinterlappens*.

Von

G. Kuschinsky.

(Eingegangen am 6. April 1939.)

Die Durchsicht der Quecksilberliteratur zeigt, daß bei der Diurese durch organische Quecksilberpräparate sowohl eine direkte Nierenwirkung, wie auch eine sogenannte „Gewebs"-Wirkung eine Rolle spielt. Die Tatsache, daß die Höhe der Diurese oft erst eintritt, wenn die weitaus größte Menge des Quecksilbers den Körper bereits wieder verlassen hat (vgl. z. B. Müller[1], Möller[2]) läßt vermuten, daß vielleicht ein hormonaler Mechanismus ausgelöst wird, der mit einer gewissen Latenzzeit arbeitet. Bei der nahen Beziehung des Hypophysenhinterlappens (HHL) zur Diurese wäre an eine Beeinflussung dieses Organs zu denken, etwa im Sinne von Fee[3] und von Marx[4], daß die Diurese öfter als eine Hemmung der Antidiurese aufzufassen sei. Wenn eine Veränderung der Sekretion des HHL unter der Wirkung eines Quecksilber-Diureticums z. B. Novasurol eintritt, so könnte es vielleicht möglich sein, auch eine Veränderung des Hormongehaltes festzustellen. Am Hypophysenvorderlappen ließ sich, jedenfalls für das gonadotrope und das thyreotrope Hormon, eine solche Veränderung des Hormongehaltes bei veränderter Sekretion nachweisen (Kuschinsky[5,6]). Für eine solche Feststellung ist natürlich notwendig, daß der Hormongehalt sich so stark verändert, daß diese Veränderung mit der Prüfungsmethode zu erfassen ist. Nach den Befunden von Simon[7] sowie Kuschinsky und Liebert[8] beträgt der Gehalt des Hinterlappens einer Ratte etwa 0,6—0,8 VE antidiuretischer Substanz. Da erst eine Veränderung von wenigstens 15—20% mit unseren Bestimmungsmethoden feststellbar ist, (nach Burn beträgt die mittlere Abweichung 12%) war nicht zu erwarten, daß schon wenige Stunden nach einer Einwirkung auf den Wasserhaushalt eine Veränderung des Hormongehalts des HHL sich auffinden lassen würde.

* Diese Arbeit wurde aus dem Roche-Fonds bei der Deutschen Forschungsgemeinschaft unterstützt.

[1] Müller, J.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **141**, 1 (1929). — [2] Möller, K. O.: Ebenda **148**, 81 (1930); **154**, 263 (1930). — [3] Fee, A. R.: J. Pharmacol. (Am.) **34**, 305 (1928). — [4] Marx, H.: Der Wasserhaushalt. Berlin, Jul. Springer, 1935. — [5] Kuschinsky, G.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **162**, 183 (1931). — [6] Kuschinsky, G.: Ebenda **170**, 510 (1933). — [7] Simon, A.: Amer. J. Physiol. **107**, 220 (1934). — [8] Kuschinsky, G., u. P. Liebert: Klin. Wschr. **1939**, im Druck.

Es ist schwer, etwas über die Höhe der Sekretion des HHL auszusagen. Man kann wohl für eine ganz grobe Schätzung der Größenordnung annehmen, daß ungefähr halb soviel Hormon zur Erhaltung der Normaldiurese nötig ist, wie zur völligen Unterdrückung der Diurese. Die zur völligen Diuresehemmung noch nötige Menge würde also ungefähr der normalerweise sezernierten entsprechen. Da man bei einer Ratte von etwa 150 g Gewicht mit 0,01 V.E. HHL die Diurese um 1 Stunde verzögern kann, würde also die in 24 Stunden sezernierte Menge etwa 0,24 V.E. betragen. Wir könnten also bei einer Veränderung der Sekretion und einer daraus folgenden Veränderung des Hormongehalts selbst unter den günstigsten Bedingungen kaum vor Ablauf von 24 Stunden einen Befund erheben.

Bei den zu erwartenden geringen Ausschlägen hielt ich es für nicht zweckmäßig, den Vergleich mit einem Standard durchzuführen, um den Fehler der Bestimmung nicht zu verdoppeln. Deshalb verglich ich direkt den Gehalt des HHL eines normalen und eines mit Novasurol behandelten Tieres. Eine solche Hormonbestimmung nach einer organischen Quecksilberverbindung ist bisher nicht gemacht worden. Dagegen haben bei schwerer Sublimatvergiftung Pak[9] eine starke Verminderung des Gehalts an uteruswirksamer und Hesse[10] auch an blutdruckwirksamer Substanz gefunden.

Methodik.

Als Hypophysenspender wurden nur männliche Ratten im Gewicht von etwa 150 g verwandt. Die Tiere wurden durch Nackenschlag getötet. Dann wurde sofort die Hypophyse entfernt und der Hypophysenhinterlappen herauspräpariert. Nach der Wägung auf einer Torsionswaage wurde sofort durch Zerreiben mit 0,25 % Essigsäure und 5 Minuten langes Kochen ein Extrakt hergestellt. Das Verfahren entsprach genau den Angaben für die Herstellung eines Extraktes aus HHL-Standardpulver. Die HHL-Extrakte der mit Novasurol behandelten Tiere wurden mit denen der Kontrolltiere auf ihre antidiuretische Wirkung direkt verglichen. Das Novasurol wurde in 0,3 ccm physiologischer Kochsalzlösung gegeben, die Kontrolltiere erhielten nur dieselbe Menge Kochsalzlösung. In der Versuchsanordnung nach Burn[11] wurde die Zeit der maximalen Ausscheidung festgestellt. Nach der genannten Methode erhalten männliche Ratten im Gewicht von 130—240 g je 5 ccm pro 100 g Körpergewicht körperwarmes Wasser mit der Magensonde. Gleichzeitig werden die HHL-Substanzen subcutan injiziert. Die Zeit bis zur Höhe der Diurese (Zeit der maximalen Harnausscheidung) ist ein Maß für die Menge der zugeführten HHL-Substanz. Alle Tiere erhielten ein gleichmäßiges Mischfutter aus Mais, Gerste und gemahlenen Krabben. Die Erhöhung der Zeit der maximalen Ausscheidung bedeutet eine Erhöhung des Gehalts an diuresehemmender Substanz. Da die absoluten Werte von Tag zu Tag und noch stärker von

[9] Pak, C.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **114**, 354 (1926). — [10] Hesse, E.: Ebenda **107**, 43 (1925). — [11] Burn, J. H.: Biologische Auswertungsmethoden. Berlin, Jul. Springer, 1937.

Monat zu Monat wechseln, war es nur möglich, jeweils fast die gleiche Zahl behandelter und unbehandelter Tiere gleichzeitig gegenüberzustellen. Das Novasurol wurde intravenös injiziert.

Versuchsergebnisse.

Der Einfluß von Novasurol auf den Hormongehalt des HHL einer normalen Ratte.

Die Versuchstiere erhielten 10 mg/kg bzw. 16 mg/kg Novasurol i. v. Sie wurden gleichzeitig mit den Kontrolltieren nach 24 Stunden getötet. Die Ergebnisse der Auswertung des Hormongehalts der HHL sind in Tabelle 1 aufgeführt. Da von Versuchs- und Kontrolltieren immer praktisch die gleiche Zahl zur gleichen Zeit verwendet wurde, ist es gestattet, einen Durchschnittswert aus der Gesamtzahl zu ziehen. Wie die Tabelle zeigt, ergibt sich eine Senkung des Hormongehalts nach 10 mg/kg Novasurol; denn der antidiuretische Effekt ist geringer geworden. Die Berechnung des mittleren Fehlers der Mittelwerte und der signifikanten Differenz nach der Formel

$$\frac{m_1 - m_2}{\sqrt{\varepsilon_1^{\,2} + \varepsilon_2^{\,2}}},$$

in der m_1 und m_2 die Mittelwerte und ε_1 bzw. ε_2 die entsprechenden mittleren Fehler sind, und das Einsetzen des gefundenen Wertes in die Tabelle von R. A. Fischer[12] ergeben, daß der beobachtete Unterschied nicht mehr als einmal in 25 Versuchen durch einen Zufall bedingt ist. Wir können also die Differenz als signifikant bezeichnen. Die Werte der Ratten nach 16 mg/kg Novasurol sind wegen des großen mittleren Fehlers nicht verwertbar.

Wir können also feststellen, daß der HHL-Hormongehalt 24 Stunden nach intravenöser Injektion von 10 mg/kg Novasurol vermindert ist.

Der Einfluß einer „Wässerung" auf den Hormongehalt des HHL einer normalen Ratte.

Nach den geschilderten Versuchen sollte versucht werden, den Zustand der behandelten Ratte durch eine Gabe von Wasser zu verändern, um vielleicht dadurch eine andere Reaktion auf Novasurol zu erhalten. Dazu war es notwendig, zuerst den Einfluß dieser Wassergabe auf den Hormongehalt des HHL zu prüfen. Die Ratten erhielten per os mit der Sonde 5 ccm Wasser pro 100 g Gewicht. Nach 24 Stunden wurden ihre HHL mit denen unbehandelter Tiere auf ihre antidiuretische Wirksamkeit verglichen. Die Ergebnisse zeigt Tabelle 2. Wir sehen, daß die mit Wasser vorbehandelten Tiere einen höheren Hormongehalt des HHL besitzen.

[12] Siehe Burn, J. H.: a. a. O., S. 22 und 215.

Tabelle 1. Hypophysenhinterlappen-Gewichte und antidiuretische Wirksamkeit von 5 γ Hypophysenhinterlappen-Substanz, 24 Stunden nach intravenöser Injektion von Novasurol, gemessen an der Zeit der maximalen Harnausscheidung (Burn) von Gruppen zu je 4 Ratten. In der letzten Spalte bedeutet jede Zahl die Z. d. m. A.* einer Gruppe.

Datum	Normale Spender-Ratten			Empfänger-Ratten (Burn-Versuch)	Spender-Ratten 24 Std. nach i. v. Injektion von 10 mg/kg Novasurol			Empfänger-Ratten (Burn-Versuch)	Spender-Ratten 24 Std. nach i. v. Injektion von 16 mg/kg Novasurol			Empfänger-Ratten (Burn-Versuch)
	Gewicht	Diurese in 24 Std.	HHL-Gewicht	Antidiuret. Effekt von 5 γ HHL, gemessen an d. Z. d. m. A.* in Min.	Gewicht	Diurese in 24 Std.	HHL-Gewicht	Antidiuret. Effekt von 5 γ HHL, gemessen an d. Z. d. m. A.* in Min.	Gewicht	Diurese in 24 Std.	HHL-Gewicht	Antidiuret. Effekt von 5 γ HHL, gemessen an d. Z. d. m. A.* in Min.
1938	g	ccm	mg		g	ccm	mg		g	ccm	mg	
3. III.	143 ***	1,0	1,12	154 148	137	9,7	0,90	139 135	133	0,0	0,93	137 135
9. III.	137 ***	3,0	0,83	149 142	134	7,1	0,85	145 148	135	7,4	0,70	188 146
16. III.	178	3,9	0,60	162	168	11,2	0,75	137 143	161	9,8	0,82	162 133
17. III.	175	0,5 **	0,85	155 133	179	4,5 **	0,67	128 128	189	0,0 **	0,88	138 128
22. III.	170	3,1	0,60	140 148	164	9,1	0,75	127	—	—	—	—
24. III.	150	0,2	0,74	128 131	—	—	—	—	170	14,8	0,73	126 105
29. III.	130	2,0 **	0,88	142 155	137	6,4 **	0,90	142 136	138	9,3 **	0,90	158 151
Durchschnittswerte (Zahl der Einzelwerte)				145 Min. (13)				137 Min. (11)				142 Min. (12)
Mittlerer Fehler				± 2,86				± 2,17				± 6,10

* Z. d. m. A. = Zeit der maximalen Harnausscheidung. – ** Schon nach 16 Std. getötet. – *** Diese Tiere haben nicht 0,3 ccm physiol. Kochsalzlösung erhalten.

Tabelle 2. Hypophysenhinterlappen-Gewichte und antidiuretische Wirksamkeit von 5 γ Hypophysenhinterlappen-Substanz, 24 Stunden nach oraler Verabreichung von 5 ccm Wasser pro 100 g Gewicht, gemessen an der Zeit der maximalen Harnausscheidung (Burn) von Gruppen zu je 4 Ratten. In der letzten Spalte bedeutet jede Zahl die Z. d. m. A.* je einer Gruppe.

Datum	Normale unbehandelte Ratten			Ratten 24 Std. nach Wassergabe per os		
	Gewicht	HHL-Gewicht	Antidiuretischer Effekt von 5 γ HHL, gemessen an der Z. d. m. A.* in Min.	Gewicht	HHL-Gewicht	Antidiuretischer Effekt von 5 γ HHL, gemessen an der Z. d. m. A.* in Min.
1938	g	mg		g	mg	
9. IV.	168	0,89	148 168	162	0,90	145 102 158
	166	0,79	142	164	0,89	150 136 141
6. V.	162	0,81	153 146	174	0,70	155 150 148
	166	0,85	138 123	168	0,84	141 119 129
10. V.	157	0,86	147 129	146	0,92	142 143
	145	0,74	146 157	153	0,89	147
	157	0,90	149 129	155	0,76	166 143
13. V.	179	0,91	139 150	158	0,76	143 147
	159	0,78	135 137	162	0,91	137
	163	0,83	115 144	151	0,72	143 172
17. V.	160	0,89	130 107	154	0,82	145 140
	165	0,83	132 137	166	0,64	130 145
	159	0,70	150 126	150	0,76	158 146
20. V.	146	0,80	149 115	154	0,75	152 149 137
	173	0,70	128 134 138	151	0,76	129 131
24. V.	152	0,70	150 122	155	0,95	131 129
	143	0,70	142 124	156	0,83	135 135
	149	0,84	154 122	139	0,68	147 167
Durchschnittswerte (Zahl der Einzelwerte)			137 Min. (36)			143 Min. (39)
Mittlerer Fehler			± 2,23			± 2,08

* Z. d. m. A. = Zeit der maximalen Harnausscheidung.

Dabei ist das Wasser nicht mehr im Körper, sondern bereits seit etwa 20 Stunden wieder ausgeschieden. Die im vorigen Abschnitt beschriebene Feststellung der signifikanten Differenz ergibt, daß der beobachtete Unterschied nicht mehr als einmal in 20 Versuchen durch Zufall bedingt ist.

Der Einfluß von Novasurol auf den Hormongehalt des HHL einer „gewässerten" Ratte.

In einer weiteren Versuchsserie wurden nur Ratten mit Novasurol behandelt, die in der soeben geschilderten Weise Wasser per os erhalten hatten. Als Kontrolltiere dienten hier solche, die nur mit Wasser vorbehandelt waren. Die Tiere erhielten 16 mg/kg Novasurol intravenös. Die Ergebnisse sind aus Tabelle 3 ersichtlich. Wir sehen eine noch stärkere Erhöhung des Hormongehalts unter der Einwirkung von Novasurol nach

Tabelle 3. Hypophysenhinterlappen-Gewichte und antidiuretische Wirksamkeit von 5 γ Hypophysenhinterlappen, gemessen an der Zeit der maximalen Harnausscheidung (Burn) von Gruppen zu je 4 Ratten, 24 Stunden nach oraler Verabreichung von 5 ccm Wasser pro 100 g Gewicht und intravenöser Injektion von 16 mg/kg Novasurol. In der letzten Spalte bedeutet jede Zahl die Z. d. m. A.* je einer Gruppe.

Ratten 24 Std. nach Wassergabe per os					Ratten 24 Std. nach Wassergabe per os und i. v. Injektion von 16 mg/kg Novasurol			
Datum 1938	Gewicht g	Diurese in 24 Std. ccm	HHL-Gewicht mg	Antidiuretischer Effekt von 5 γ HHL, gemessen an der Z. d. m. A.* in Min.	Gewicht g	Diurese in 24 Std. ccm	HHL-Gewicht mg	Antidiuretischer Effekt von 5 γ HHL, gemessen an der Z. d. m. A.* in Min.
14. IV.	145	6,5	0,72	116 128	145	15,0	0,71	137 126
	143	8,6	0,72	130 132	147	12,9	0,75	121 144
	151	7,0	0,71	135 133	142	0,0	0,62	145 154
20. IV.	149	7,5	0,75	140 135 125	153	10,5	0,66	178 159 135 133 164
	153	18,8	0,71	135 134 141	—	—	—	—
22. IV.	162	5,2	0,84	157 138 130	158	0,4	0,66	163 155
	163	8,2	0,80	157 130 154	158	17,8	0,69	138 152
	—	—	—	—	154	3,1	0,75	162 136
Durchschnittswerte (Zahl der Einzelwerte)				136 Min. (18)				147 Min. (17).
Mittlerer Fehler				± 2,54				± 3,73.

* Z. d. m. A. = Zeit der maximalen Harnausscheidung.

Wassergabe. Die im Abschnitt über die Wirkung des Novasurols beim normalen Tier beschriebene Berechnung der signifikanten Differenz ergab, daß der beobachtete Unterschied nicht mehr als einmal in 50 Versuchen durch Zufall bedingt ist.

Da wir gesehen haben, daß die Wässerung eine Erhöhung des Gehalts des HHL macht und daß Novasurol bei einem gewässerten Tier eine weitere Erhöhung des Hormongehalts macht, wurde versucht, gleichzeitig normale, gewässerte und nach Wässerung mit Novasurol behandelte in einer Versuchsserie gegenüberzustellen. Die Zahl dieser Versuche, die einige Monate später durchgeführt wurden, war viel kleiner. Sie wurden aber nicht weiter geführt, weil schon die Normaltiere so große Streuungen ergaben, daß sich ein Ergebnis nicht erzielen ließ. Es ist möglich, daß diese starke Streuung der Werte auf einen ungleichen Kochsalzgehalt der Nahrung zurückzuführen war.

Der absolute Gehalt der HHL an Hormon.

Über den absoluten Hormongehalt des HHL wird in einer anderen Arbeit (Kuschinsky und Liebert[1]) berichtet. Die in diesen Versuchen verwendete Menge von 0,005 mg frischer HHL-Substanz entspricht etwa 0,0045 VE Hypophysin = etwa 0,0022 mg des Standardpulvers, ist also viel wirksamer als der Standard aus Rinder-HHL.

Besprechung der Ergebnisse.

Die Versuche zeigen, daß Novasurol bei einer normalen Ratte den Hormongehalt des HHL senkt. Diese Veränderung kann nicht als Folge einer Diurese überhaupt angefaßt werden, weil wie die übrigen Versuche zeigen, eine durch Wasser erzeugte Diurese nicht denselben Effekt hat. Auch die durch Novasurol bedingte Salzverarmung hat für sich allein eine verschiedene Wirkung am HHL. Es ist nun bemerkenswert, daß die Ausgangslage des Organismus für die Novasurolwirkung nicht gleichgültig ist; denn bei den Tieren, die gleichzeitig mit der Novasurol-Injektion Wasser per os erhalten hatten, ist eine Erhöhung des Hormongehalts festzustellen. Auch die einfache Wässerung hat eine, wenn auch geringere Erhöhung des Hormongehalts zur Folge. Es ist anzunehmen, daß es sich in diesem Falle um eine Folge der vorübergehenden Salzverarmung handelt; denn in einer anderen Versuchsreihe konnte gezeigt werden, daß Kochsalzzufuhr zu einer Verminderung des Hormongehalts führt (Kuschinsky und Liebert[13]). Ob die Veränderung der Reaktion auf Novasurol beim gewässerten Tier gleichfalls auf eine solche Salzverarmung zurückzuführen ist, läßt sich nicht entscheiden. (Es sei noch einmal darauf hingewiesen, daß die absoluten Werte für die Zeiten der maximalen Harnausscheidung

[13] Kuschinsky, G., u. P. Liebert: Klin. Wschr., im Druck.

aus verschiedenen Versuchsserien nicht miteinander verglichen werden dürfen, sondern nur die jeweils unter den gleichen Bedingungen an den gleichen Tagen erzielten Ergebnisse.)

Die beobachteten Veränderungen der antidiuretischen Wirksamkeit könnten bei gleichbleibendem Vasopressingehalt auch unter Umständen auf einen Wechsel im Verhältnis des Vasopressins zum Oxytocin beruhen, da Oxytocin oder jedenfalls eine mit dem Oxytocin mitgehende Substanz diuretische Wirkungen zeigt (Kuschinsky und Bundschuh [14]).

Es ist schwer zu sagen, ob die gefundenen Änderungen des Gehalts auch eine Änderung der Sekretion des HHL bedeuten. Jedenfalls können wir auf Grund der Befunde annehmen, daß unter der Novasurolwirkung der HHL selbst Veränderungen unterliegt, die wahrscheinlich auf eine Veränderung der Sekretion zu beziehen sind. Daß es sich dabei nicht um unspezifische oder Gift-Wirkungen handelt, geht gerade aus dem verschiedenen Verhalten des HHL bei verschiedenen Ausgangsbedingungen hervor. So dürfen wir auch zur Erörterung stellen, ob zum mindesten ein Teil der „Gewebs"-Wirkungen des Novasurols auf dem Wege über eine Veränderung der HHL-Sekretion zu erklären ist.

Zusammenfassung.

1. 24 Stunden nach einer Novasurolinjektion (10 mg/kg i. v.) ist der Gehalt des HHL einer normalen Ratte an antidiuretischer Substanz vermindert.

2. 24 Stunden nach einer großen Wassergabe ist der Hormongehalt des HHL vermehrt.

3. 24 Stunden nach einer Wassergabe und einer Novasurolinjektion ist der Hormongehalt stärker vermehrt.

4. Der Gehalt des frischen meist 0,7—0,9 mg schweren HHL einer normalen Ratte beträgt 0,9 VE/mg. Die in diesen Versuchen verwendete Menge von 0,005 mg frischer HHL-Substanz entspricht etwa 0,0022 mg des Standardpulvers.

5. Es ist anzunehmen, daß wenigstens ein Teil der „Gewebs"-Wirkungen des Novasurols auf dem Wege über eine Veränderung der HHL-Sekretion zu erklären ist.

[14] Kuschinsky, G., u. H. E. Bundschuh: Klin. Wschr. **1939**, S. 207; Naunyn-Schmiedebergs Arch., im Druck.

Aus dem Pharmakologischen Laboratorium der I. G. Farbenindustrie Aktiengesellschaft, Werk Elberfeld.

Über einige Verbesserungen und Neukonstruktionen von Instrumenten und Apparaten.

Von

J. Scholz.

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 5. März 1939.)

Sternumschere für Hunde und Katzen.

Die Eröffnung des Brustraumes zwecks Freilegens des Herzens und der Lungen geschieht am idealsten, indem das Brustbein der Länge nach und genau in der Mitte gespalten wird. Dies gelingt aber bei den hierfür in Frage kommenden Tieren (Hunden, Katzen, Kaninchen) wegen der ana-

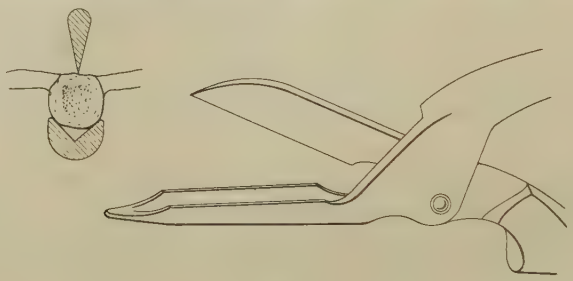


Abb. 1.

tomischen Beschaffenheit des Sternums nicht immer einwandfrei. Das Brustbein dieser Tiere ist ja nicht wie beim Menschen flach und breit, sondern stabförmig und rund. Außerdem springt das Profil in den Brustkorb hinein vor und bleibt so der Kontrolle durch das Auge während des Scheidens entzogen. Des weiteren ist das Brustbein der Tiere insbesondere bei jungen Individuen ausgeprägt segmentiert und in seinen Teilen beweglich. Diese Umstände bewirken, daß das Schneideinstrument häufig seitlich abweicht und unangenehme und zeitraubende Blutungen verursacht. Diesen Nachteil haben besonders die scherenförmigen Instrumente. Geeigneter sind Messerstanzen, aber auch sie gleiten wegen der unzweckmäßigen Form des Widerlagers gerne ab. Wir haben nach vergeblichem Fahnden im chirurgischen Instrumentenschatz nachfolgende Schere konstruiert (siehe Skizze Abb. 1):

Das Prinzip ist folgendes: Eine Messerschneide wird gegen eine rinnenförmige Unterlage gedrückt, die das aufliegende Sternum so festhält, daß

es zwangsläufig in der Mittellinie gespalten wird. Das Widerlager ist nach vorne verjüngt und endet in einer geeigneten Spritze, so daß es sich beim Schneiden leicht längs des Knochens vorschieben läßt, wobei es die darunterliegenden Weichteile abdrängt.

Das Instrument hat sich in zahlreichen Versuchen ausgezeichnet bewährt und kann durch die Firma Walb Nachf., Heidelberg bezogen werden.

Stromuhr für geschlossenen Kreislauf.

Neben der von Weese[1] angegebenen ist die Stromuhr von Ludwig in der Modifikation nach Stolnikov[2] für Versuchsanordnungen mit sogenanntem geschlossenem Kreislauf die gebräuchlichste. Es entspricht aber häufig den Anforderungen des Versuchs, mit einer möglichst geringen Menge Blut auszukommen, also überflüssige Leitungen zu sparen. Wir haben deshalb durch Anordnung der Zylinder in verschiedener Höhe erreicht, daß die überkreuzten Leitungen fortfallen können (s. Abb. 2). Der Blutspiegel steht dann schon normalerweise unterhalb der Meßmarke. Durch Abklemmen des Verbindungsschlauches wird die Messung getätigt. Durch die Schwerkraft stellt sich dann der Blutspiegel von selbst in kürzester Zeit wieder unter die Nullage ein. So fällt auch der entsprechende bei der Stolnikovschen Stromuhr nötige Handgriff fort.

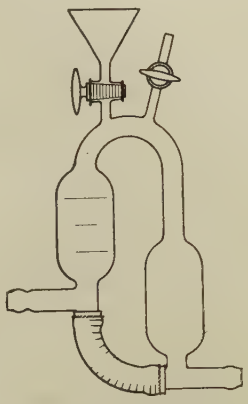


Abb. 2.

Elektrische Zeitmarke.

Prinzip. Ein Zeigermagnet hat statt des sonst üblichen festen Anschlages als solchen eine weiche Feder, so daß je nach Stärke des durchfließenden Stromes ein größerer oder kleinerer Ausschlag entsteht. In Verbindung mit einem entsprechenden Schaltuhrwerk erhält man dadurch als Zeitzeichen lange Striche für die volle Minute und entsprechend kürzere für die Sekundenintervalle.

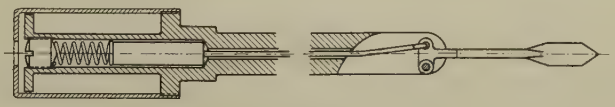


Abb. 3a.

Der Zeigermagnet (Abb. 3a) ist so gebaut, daß am vorderen Ende eines etwa 140 mm langen, 9 mm-Stabes ein kleiner Zeigerhebel eingesetzt ist. Er kann bewegt werden durch Zug an einem dünnen Draht, der durch

[1] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **167**, 111 (1932). — [2] S. Anrep u. Bulatao: Zschr. f. Physiol. **60**, 190 (1925).

eine entsprechende zentrale Längsbohrung des Stabes verläuft und an seinem anderen Ende einen Weicheisenanker trägt. Dieser ragt zur Hälfte in eine am Hinterende des Stabes angebrachte Magnetspule und stößt gegen eine weiche Spiralfeder. Der Federdruck ist durch eine Stellschraube regulierbar.

Das Schaltwerk (Abb. 3b) wird betrieben durch ein selbst anlaufendes Synchronuhrtriebwerk (AEG). Auf der Achse, die 1 Umdr./Min. macht, ist ein Zylinder aufgesetzt, dessen Umfang der gewünschten Kontaktzahl entsprechend unterteilt und mit kurzen Nockenstiften versehen ist. Davon liegen 5 (für die 10 sec-Intervalle) in einer Reihe und der nächste (für die volle Minute) an dem entsprechenden Ort einer parallelen Reihe, so daß zwei Lamellen-Kontaktpaare*, die tangential zu der Trommel liegen,

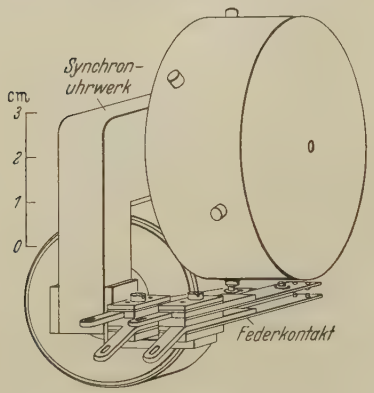


Abb. 3b.

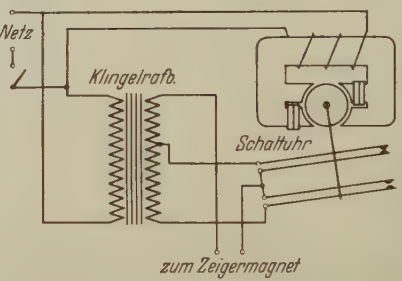


Abb. 3c.

entsprechend abwechselnd niedergedrückt werden können. Als Stromquelle dient ein Klingeltransformator. Dadurch werden je 5mal 3 Volt und dann 1 mal 8 Volt auf den Zeigermagneten geschaltet (Abb. 3c) und so entsprechend große Ausschläge erzielt. Ein derartiges Gerät ist in unserem Laboratorium nun schon seit etwa einem Jahr täglich mehrere Stunden in Betrieb und arbeitet sehr zuverlässig.

Führung für Manometerschwimmer.

Die übliche Führung von Manometerschwimmern durch eine auf das Manometerrohr aufgesetzte Lochscheibe verhindert nicht ein Verbiegen usw. des aus dem Manometer herausragenden Teiles der Schwimmerachse. Gerade bei Quecksilbermanometern macht sich aber schon eine geringe Krümmung des Schwimmerstabes unangenehm bemerkbar. Wir benutzen deshalb mit Vorteil folgende Anordnung: Die Lochscheibe wird an das Ende eines Rohres verlegt, das über dem Manometer achsengleich mit dem Manometerschenkel angebracht ist. Dieses Rohr hat ein Fenster für den

* Für Fernsprechrelais von Siemens u. Halske serienmäßig hergestellt (Type V. S, rls. 64).

Zeiger. Die eine Kante des Fensters ist abgerundet und poliert und dient zum Anlegen des Zeigers dadurch, daß das Rohr sich um seine Achse drehen läßt (s. Abb. 4). Als Zeiger haben sich Filmstreifchen bewährt.

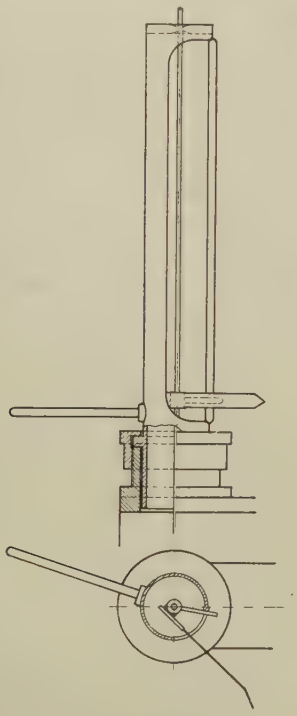


Abb. 4.

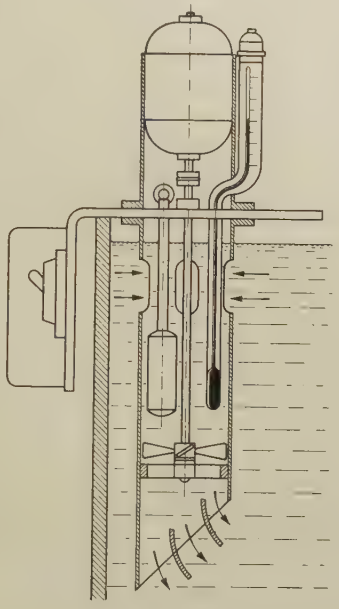


Abb. 5.

Heizung mit Rührwerk für Thermostaten.

Prinzip. Durch eine Propellerschraube wird in einem Rohr eine Wasserströmung erzeugt, die an einem elektrischen Heizelement und einem einstellbaren Kontaktthermometer vorbeistreicht und so auch das Wasser des zu heizenden Beckens in Umlauf versetzt.

Die Bauart ist aus Abb. 5 zu ersehen. Die Grundplatte hat die Form eines Dreiecks und ist so gestaltet, daß der ganze Apparat in eine Ecke eines viereckigen Beckens gehängt werden kann. Heizungsrelais und Hauptschalter sind ebenfalls fest damit verbunden. Man kann so mit der einen Heizvorrichtung nach Wunsch verschiedene Becken beheizen. Der Vorteil ist sinnfällig: Billige Glasaquarien können benutzt werden und die entsprechenden Apparaturen können stets zusammengebaut bleiben.

Als Motor benutzten wir vorteilhaft einen der Synchronmotoren, wie sie zum Antrieb der Tischventilatoren gebräuchlich sind. Sie laufen — weil ohne Kollektor — absolut ruhig und geräuschlos.

Das Heizelement richtet sich bezüglich seiner Leistung nach der Wassermenge. 300 Watt sind für die Konstanthaltung von 37° für etwa 25 Liter genügend.

Soll die Temperatur sehr scharf konstant gehalten werden, so stört die relativ hohe Wärmekapazität der üblichen nach dem Prinzip der Tauchsieder gebauten Heizelemente dadurch, daß nach Abschalten des Stromes noch nachgeheizt wird. Dies wird vermieden, wenn das Wasserbad durch eine Grundheizung erwärmt wird, die so dimensioniert ist, daß sie eben nicht mehr ausreicht, die Temperatur konstant zu halten. In den beschriebenen Regler wird dann eine Zusatzheizung eingebaut, die aus blankem Widerstandsdraht besteht und mit Niederspannung von etwa 12—24 Volt gespeist wird und etwa 50 Watt umsetzt. Die Niederspannung gestattet die Benutzung blanker Leitungen ohne Gefahr.

Aus dem Pathologisch-anatomischen Institut der Universität Innsbruck.
(Vorstand: Prof. Dr. F. J. Lang.)

Zur Histopathologie der Knochen bei chronischer experimenteller Fluorverabreichung.

Von

Dr. **H. Kellner.**

Mit 11 Textabbildungen.

(Eingegangen am 8. März 1939.)

Genauere Kenntnisse über die Wirkung der Fluoride auf den Knochen stammen erst aus jüngster Zeit, mikroskopische Untersuchungen der fluorgeschädigten Knochen sind bisher nur vereinzelt vorgenommen worden. Die Veränderungen, die bei anhaltender berufsmäßig bedingter oder experimenteller Zufuhr von Flußspatverbindungen auftreten, sind nicht einheitlich, indem osteomalacieartige Zustände mit Osteoporose und Neigung zu Exostosenbildung wie auch hyperostotisch-sklerotische Skeletveränderungen zur Ausbildung gelangen.

Die ersten experimentellen Forschungen von Brandl und Tappeiner (1891), die die Knochen eines längere Zeit mit NaF gefütterten jungen, aber ausgewachsenen Hundes auch mikroskopisch prüften, ergaben eine völlig unveränderte Struktur des Knochens, obwohl das Tier in den letzten Monaten des Versuchs eine „eigentümliche steife Haltung des Rückgrats, besonders des Kreuzes beim Gehen und Laufen" gezeigt hatte. Die Knochen fielen durch ihre weiße Farbe, eine lebhaft glitzernde Spiegelung und besondere Sprödigkeit auf. Über Formveränderungen findet sich bei Brandl und Tappeiner keine Bemerkung. Die Haversischen Kanäle und auch die Markräume der spongiösen Knochen (Wirbelkörper) waren dagegen mit zahlreichen Kristallen vollgepfropft, die eine Verbindung von Würfel und Oktaeder darstellten. Kristallographische Untersuchungen machten es wahrscheinlich, daß Flußspat vorliegt. Roholm glaubt jedoch, daß die von Brandl und Tappeiner beobachteten Ablagerungen von kristallinischem Calciumfluorid einer falschen Deutung zuzuschreiben seien. Diese Erscheinung wurde noch von Jodlbauer und v. Stubenrauch, nicht aber von späteren Untersuchern bemerkt. In Markräumen und Gefäßkanälen beschreibt aber auch Roholm körnige und klumpige Ausfällungen von Kalk, die sicher den auch in unseren Untersuchungen gefundenen Ausfällungen gleichzusetzen sind und die außer Kalk noch eine andere mineralische Substanz enthalten.

Untersuchungen, die Dittrich (1932) an Knochen von Kaninchen, Meerschweinchen und Ratten nach Fütterung mit hohen Dosen von Fluor vorgenommen hatte, ergaben vermehrte und erweiterte Gefäßkanäle, Hohlraumbildungen in der inneren Hälfte der Kompakta der langen Röhrenknochen. In fortgeschrittenen Stadien konfluieren diese Resorptionsräume zum Teil untereinander und mit der Markhöhle und schließlich wird die kompakte Rinde nahezu spongiosiert. In diesen durch Knochenabbau entstandenen Hohlräumen lagert sich nach Dittrich eine rötlich-gelbe Substanz ab, über deren Natur der Verfasser jedoch keine näheren Angaben macht. Die erwachsenen Ratten hatten etwas verkrümmte und verkürzte

Femura. Die Ursache für die gesteigerten Abbauvorgänge sucht Dittrich in einer „Kalkumlösung" in der Kompakta nahe der Markhöhle, wodurch ein minderwertiger Knochen entsteht. Die Minderwertigkeit offenbare sich in der Resorption ganzer Kompaktateile und im teilweisen Verschwinden der Spongiosabälkchen, z. B. in der Wirbelsäule. Die von denselben Tieren stammenden Kieferknochen untersuchte Pachaly und gelangte zu ähnlichen Ergebnissen.

Sutro (1935) widmete seine Aufmerksamkeit hauptsächlich den Zahnveränderungen fluorvergifteter Ratten, berichtet aber auch über Ablagerungen von „Kalkkörnern" in den (nicht deformierten) Knochen, über den Befund von „osteoidem" Gewebe in ungewöhnlichem Ausmaß an der Begrenzung jeden Haversischen Kanals sowie auch über periostale Reaktionen.

Viel eindrucksvoller sind die Ergebnisse, die Rost (1937) nach Verfütterung von NaF an Hunden erzielte. Die distalen Enden von Radius und Ulna waren auffällig verdickt, mechanisch stark beanspruchte Stellen an den Unterkiefern und am Schädeldach wiesen starke Knochenwucherungen auf. Je länger die Fluoridfütterung fortgesetzt wurde, um so mehr traten an allen Knochen osteoplastische, aber auch osteoporotische Veränderungen auf, die den Knochen ein höckerig zerklüftetes Aussehen gaben. Die mikroskopische Untersuchung — von fachmännischer Seite durchgeführt — ließ nach den Angaben Rosts in den osteoplastischen und osteoporotischen Vorgängen keine histologischen Besonderheiten erkennen.

Roholm, der sich im besonderen mit der Toxikologie des Fluors befaßte, sucht Ordnung in die teilweise schwer auf eine gemeinsame Linie stellbaren Befunde zu bringen. Die chronische experimentelle Fluorvergiftung äußert sich nach Roholm 1. in degenerativen Zahnveränderungen, 2. in einem osteomalacischen Leiden, das gemeinsame Züge mit Rachitis aufweist und 3. in einer diffusen Osteosklerose. Eine wesentliche Rolle spielt nach Roholm dabei die Dosierung des Fluors insofern, als geringe Mengen Osteosklerose, hohe dagegen Osteomalacie hervorrufen sollen. Die Osteosklerose wurde nach Roholm bis jetzt nur bei ausgewachsenen Individuen beobachtet und ist als Ergebnis experimenteller Vergiftung bis jetzt nur bei der Ratte bekannt. „Knochen und Zahngewebe, das sich unter dem Einfluß von Fluor bildet, weist als gemeinsamen Zug eine irreguläre Struktur der organischen Matrix sowie Verkalkungsanomalie auf, die durch abnorme unregelmäßige, häufig grobkörnige Ausfällung von Mineralsalzen gekennzeichnet wird. Das Knochengewebe weist eine merkwürdige Doppelreaktion auf: bald erhöhtes Wachstum und vermehrte Kalkausfällung, bald verminderte Ca-Ablagerung mit vorwiegend atrophisierenden Prozessen" (Roholm).

Im einschlägigen Schrifttum läßt sich demnach über das mikroskopische Verhalten des Knochens bei der Fluorvergiftung kein klares und vor allem kein einheitliches Bild gewinnen. Um so mehr erscheint es angebracht, vom rein morphologischen Standpunkt aus die Knochenveränderungen bei chronischer experimenteller Fluorvergiftung noch einmal zu untersuchen.

Zur Verfügung standen mir die Knochen von jungen Hunden, an welchen Prof. W. Bauer (Innsbruck) zur Prüfung der Zahnveränderungen folgende Fütterungsversuche durchgeführt hatte:

1. Zwei neugeborene Hunde — von ihrer vor und nach dem Wurf mit hohen NaF-Dosen (bis 1 g täglich) gefütterten Mutter gesäugt — wurden 1 Monat nach ihrer Geburt getötet, ohne andere Nahrung bekommen zu haben.

2. Drei Hunde desselben Wurfes wie 1. erhielten in einem Alter von 1 Monat täglich 0,1 g NaF in ihrer Nahrung. Eines der Tiere wurde im Alter von $2^1/_2$ Monaten getötet, die beiden anderen gingen im Alter von 2 bzw. 3 Monaten ein.

3. Vier 6 Wochen alte Hunde, von denen zwei 0,2 g NaF, einer wegen Erbrechens nur 0,1 g NaF dem täglichen Futter zugesetzt erhielten, wurden nach $2^1/_2$ Monaten getötet. Ein Kontrolltier.

4. Vier junge noch wachsende Hunde, von denen einer 0,2 g NaF, zwei andere 0,1 g NaF bekamen, wurden nach 3 Monaten F-Fütterung getötet. Ein Kontrolltier.

5. Von zwei Hunden desselben Wurfes wie 1. und 2. erhielt der eine zuerst 0,1 g, später 0,3 g und dann 0,5 g NaF und wurde im Alter von 5 Monaten gleichzeitig mit dem als Kontrolle gehaltenen anderen Tier getötet.

Von allen Hunden wurden Kieferknochen, lange Röhrenknochen, Knochenknorpelgrenze der Rippen und Teile des Schädeldaches in Formol fixiert, mit Salpetersäure entkalkt, in Celloidin eingebettet und Schnitte davon mit Hämatoxylin nach Hansen-Bock vor- und mit Eosin nachgefärbt, aber auch ungefärbt untersucht.

Die Zahnveränderungen werden in dieser Mitteilung nicht erörtert.

Versuchsreihe 1.

Schon die beiden Hunde, die das Fluor nur durch die Muttermilch zugeführt erhielten, zeigen in ihrem wachsenden Skelet Abweichungen von der Norm. Auf verhältnismäßig großen Anteilen der lamellös gebauten Rinde der langen Röhrenknochen finden sich periostale Auflagerungen (Abb. 1),

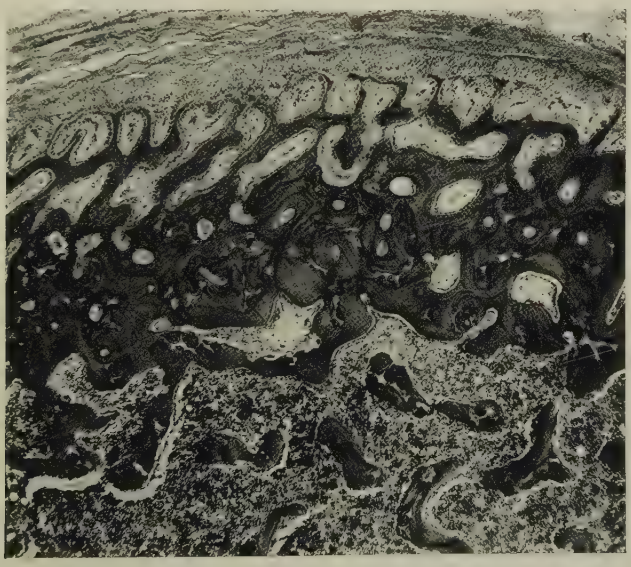


Abb. 1. Röhrenknochen. Periostale Auflagerungen, beginnender Abbau der ursprünglichen Knochenrinde. (Tier der Versuchsreihe 1.)

die den ganzen Umfang der Knochen einnehmen und in besonderer Stärke an den Ansatzstellen von Muskeln und Sehnen entwickelt sind. Dieser neue periostal gebildete Knochen ist durchweg geflechtartig gebaut. Die Oberflächen der Knochenbälkchen tragen dichte Osteoblastenreihen. Die Knochenkörperchen sind unregelmäßig geformt und erinnern in ihrer Gestalt

zum Teil an Knorpelzellen. Stellenweise durchziehen Anbaukittlinien die Knochenbälkchen, nirgends sind Unterbrechungskittflächen in diesen Abschnitten zu entdecken. Die kalklosen Säume überschreiten nicht oder nicht wesentlich das Ausmaß, das bei sehr lebhaftem Knochenanbau zu finden ist. Der Übergang vom unverkalkten zum verkalkten Knochen ist durch eine einfach glatte Linie dargestellt. Die Knochenbälkchen der periostalen Wucherungen stehen im allgemeinen senkrecht zur Oberfläche, sind aber örtlich auch schon konzentrisch um den Knochen angeordnet.

Die Knochenrinde, deren innere Generallamellen fehlen, wird vom Markraum her durch Ostoklasten abgebaut. Der kompakte Rindebau ist vielfach durch die von innen vorschreitende Resorption verloren gegangen, die Rinde ist aufgeblättert und gleicht oft mehr einer Spongiosa. Örtlich sind jedoch noch zahlreiche gut erhaltene Osteone der Rinde vorhanden. Dem ursprünglichen Knochen kommt demnach ein verschieden großer Anteil am Aufbau der Knochenrinde zu. In Abb. 1 ist noch über die Hälfte der Kompakta erhalten, an anderen Stellen beherrschen aber die periostalen Wucherungen das Bild.

Die Unterkiefer sind bei den Versuchstieren dieser Reihe etwas verdickt und zeigen dieselben Wucherungen, wie sie am Periost der langen Röhrenknochen bestehen, nur in geringerem Ausmaße. Am Schädeldach und an der Knochenknorpelgrenze der Rippen sind keine als krankhaft anzusprechenden Veränderungen feststellbar.

Während die Plazenta heute als fluorundurchlässig angesehen wird, darf als erwiesen gelten, daß F durch die Milch ausgeschieden wird. Die, wenn auch seltenen Befunde von „mottled teeth" bei Brustkindern (Smith und Smith, Roholm) beweisen dies. Nun zeigen die Veränderungen an den Röhrenknochen beider Hunde, daß die Fluorausscheidung durch die Brustdrüsen sogar die Reizschwelle für die Knochenveränderungen überschreiten kann, die von Roholm für den Menschen 5mal höher als die Reizschwelle für die Entstehung der „mottled teeth" angegeben wurde. (Das 12 kg schwere Muttertier hatte täglich 1 g NaF erhalten.)

Die langen Röhrenknochen, wahrscheinlich als die in diesem Alter funktionell am meisten beanspruchten Skeletteile, zeigen also bereits bei einer geringen Fluormenge einen gesteigerten Umbau der Knochenrinde, die schließlich zum Großteil durch periostale Wucherungen geflechtartigen Knochens ersetzt wird. Im periostalen Auflagerungsgebälk ist keine Störung der Verkalkung bemerkbar. Das nur durch die Muttermilch zugeführte Fluor bewirkt also keine morphologisch faßbare Verkalkungsstörung im Knochensystem.

Versuchsreihe 2.

Das Skelet von drei Hunden desselben Wurfes wie der eben besprochenen, die von ihrem 2. Lebensmonat an täglich 0,1 g NaF bekamen und von denen zwei nach 1 bzw. 2 Monate langer Fluorfütterung, einer nach $1^1/_2$ Monaten getötet wurde, zeigt sich in ganz besonderer Weise ver-

ändert. Die Kieferknochen, die langen Röhrenknochen und das Schädeldach, namentlich der beiden älteren Tiere sind verdickt, die Knochenknorpelgrenzen der Rippen stark aufgetrieben. Mikroskopisch ist nur mehr stellenweise lamellös gebauter Knochen und einigermaßen erhaltene Osteone vorhanden. Im wesentlichen herrscht geflechtartiger Knochen vor.

Die Kieferknochen, die einen weitgehenden Umbau aufweisen, bestehen aus einer kompakten, ungefähr $1^1/_2$ mm dicken Außenschicht, unter der eine ziemlich dicht gebaute stark verbreiterte Spongiosa bis an die Zahnfächer reicht. Die breite sehr zellreiche Schicht des Periosts bildet besonders an der bukkalen Seite ständig neuen ziemlich kompakten Knochen, der aus eng nebeneinanderstehenden und senkrecht auf die Oberfläche gerichteten Knochenbälkchen besteht. In der $1^1/_2$ mm dicken Außenschicht und zwar im Grenzgebiet zur Spongiosa sind die Oberflächen der Knochenbälkchen von zahlreichen Ostoklasten besetzt, die den Knochen lakunär abbauen und spongiosieren. Die Spongiosa besteht ebenfalls aus einem völlig embryonal gebauten Knochengewebe mit allen Zeichen eines fortwährenden Umbaues. Die Knochenbälkchen sind häufig auf der einen Seite mit hohen Osteoblastensäumen besetzt, während an anderen Stellen desselben Bälkchens Ostoklasten in Howshipschen Lakunen den Knochen benagen. Zahlreiche Abbaukittlinien durchsetzen die Bälkchen zur Gänze oder streckenweise.

Neben diesen Veränderungen der Dickenzunahme und Porosierung läßt das mikroskopische Bild in dieser Versuchsreihe auch eine hochgradige Verkalkungsstörung erkennen. Der neugebildete Knochen unter dem Periost weist überall breite, weit über das Normalmaß hinausgehende kalklose Säume auf. Diese Grenzen an den verkalkten Knochen gewöhnlich mit einer breiten körnig-krümeligen Verkalkungszone, seltener auch mit einer Abbaukittfläche.

Die Verkalkung der in ständigem Umbau begriffenen Spongiosa erfolgt sehr unregelmäßig. Körnige Höfe um einzelne oder mehrere der oft Knorpelzellen ähnlichen Knochenkörperchen und die körnig-krümeligen Zonen verleihen der Spongiosa im gefärbten Präparat ein scheckiges Aussehen. Die körnig-krümeligen Zonen verlaufen vielfach parallel mit den Knochenlamellen, soweit solche überhaupt vorhanden sind, durchsetzen aber auch in jeder anderen Richtung, oft scheinbar ganz wahllos, den Knochen.

Sind schon die beschriebenen periostalen Wucherungen namentlich am Ansatz von Muskeln, die breiten kalklosen Säume und die körnig-krümeligen Zonen, sowie die körnigen Höfe um die Osteozyten den Veränderungen bei Rachitis sehr ähnlich, so wird diese Ähnlichkeit noch durch die Störung an der Knochenknorpelgrenze der Rippen verstärkt. Die Wucherungszone des Knorpels ist verbreitert, der Abbau des Großzellenknorpels stellenweise mangels Verkalkung der Knorpelgrundsubstanz unterblieben. Die Knochenknorpelgrenze ist daher vielfach durch eine unregelmäßige gezackte Linie dargestellt (Abb. 2). Der hier enchondral neugebildete Knochen ist größten-

teils unverkalkt. Die mangelnde Festigkeit dieser Zone drückt sich in der starken Auftreibung der Knochenknorpelgrenze aus.

Abb. 2. Rippe. Unregelmäßiger, gezackter Verlauf der Knochenknorpelgrenze. (Tier der Versuchsreihe 2.)

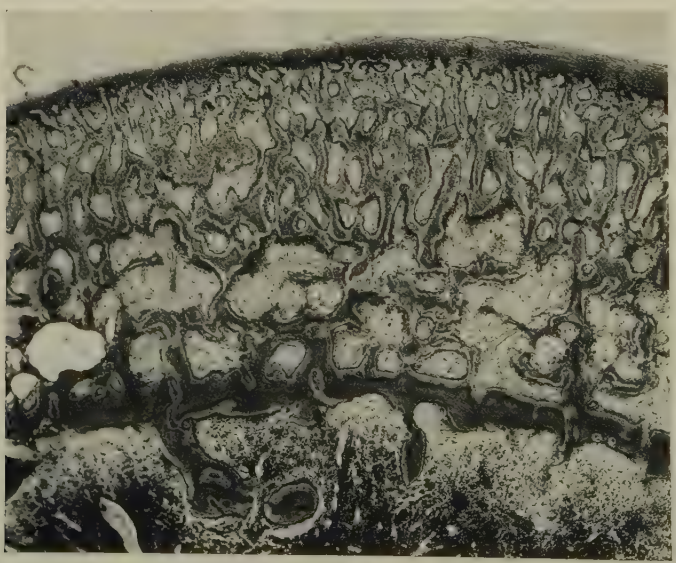


Abb. 3. Röhrenknochen. Weitgehender Ersatz der Knochenrinde durch periostale Wucherungen. Breite kalklose Säume auch am älteren Knochen. (Tier der Versuchsreihe 3.)

Die langen Röhrenknochen zeigen bei den zwei älteren Tieren mächtige periostale Auflagerungen senkrecht zur Oberfläche angeordneter Bälkchen

auf dem geringen Rest der älteren Knochenrinde, die gleich wie die Auflagerungen hauptsächlich aus geflechtartigen Knochen besteht (Abb. 3). Bei einem der Versuchstiere überwiegen Anbauvorgänge, während bei den anderen beiden der Knochenabbau in den Vordergrund tritt, wodurch ein poröser Knochen entsteht. Die übrigen Veränderungen an den Röhrenknochen, namentlich die Verkalkungsstörung decken sich mit den Feststellungen an den anderen Skeletteilen.

Die beschriebenen Befunde, die eine so große Ähnlichkeit mit Rachitis an den Tag legen, waren bei keinem der anderen Versuchstiere nachzuweisen. Die Frage nun, ob die Fluorvergiftung allein Schuld an diesen Veränderungen trägt oder ob etwa eine spontane Erkrankung an Rachitis dazu gekommen ist, kann nicht mit Sicherheit entschieden werden, da kein in demselben Alter getötetes Kontrolltier zur Verfügung steht. Da aber bei anderen Hunden, bei denen eine Spontanrachitis sicher ausgeschlossen werden konnte, die durch Fluor hervorgerufene Verkalkungsstörung ebenfalls gemeinsame Züge mit Rachitis trägt, hat die Annahme Berechtigung, daß die chronische Fluorvergiftung in einem dazu besonders anfälligen Alter, vielleicht auch nur bei bestimmter Dosierung, imstande ist, rachitisähnliche Knochenstörungen zu bewirken. Allenfalls käme auch eine mittelbare Wirkung des Fluors in Frage. Wenn schon Fluor die Ascorbinsäure zu inaktivieren scheint (Philips und Mitarbeiter), so wäre eine ähnliche Wirkung auf das Vitamin D denkbar. Die von Lantz und Smith gemachte Beobachtung, daß mit Fluor gefütterte Ratten um 50% weniger Calcium und Phosphor aus der Nahrung zurückzuhalten vermögen als normale Tiere, spricht für eine gestörte Kalkverwertung.

Es bleibt noch anzuführen, daß bei einem Versuchstier die Verkalkungsstörung noch in einer anderen Form auftrat als Ablagerungen von dunkelblau färbbaren Körnern, die von Roholm als „Kalkkörner" bezeichnet werden. Da aber diese Befunde sich vollständig mit in späteren Reihen erhobenen Bildern decken, soll hier nur vermerkt werden, daß die Kalkablagerungen (abgesehen von den Zähnen) im Knochen der Alveolen und deren Nachbarschaft, ferner in der knöchernen Begrenzung des Canalis mandibulae, im Mark und in den Gefäßen zu finden sind, die kalklosen Knochenpartien dagegen frei lassen.

Das Markgewebe der Knochen erweist sich in Gebieten lebhaften Umbaues schleimgewebsähnlich, faserig abgeändert. In der Spongiosa bilden sternförmig verzweigte Zellen, die untereinander durch Ausläufer in Verbindung stehen, ein weitmaschiges Retikulum, dessen Lücken mit farbloser Flüssigkeit erfüllt sind. Da und dort finden sich auch vereinzelt Zellen des hämatopoetischen Systems. Die dünnwandigen weiten Gefäße des Knochenmarks zeigen sich häufig erweitert und strotzend mit roten Blutkörperchen gefüllt. Im Bereich der periostalen Wucherungen liegt ein von zahlreichen Kapillaren durchzogenes Fasernmark in den schmalen Spalten zwischen den Knochenbälkchen.

Versuchsreihe 3.

Die drei 6 Wochen alten Hunde dieser Versuchsreihe, von denen zwei je 0,2 g, einer 0,1 g, NaF täglich im Futter erhielten, zeigen übereinstimmende Knochenveränderungen. Die Unterschiede in der Dosis, die wegen etwaigen Erbrechens in Kauf genommen werden mußten, beeinflußten weder die Art der Erscheinungen noch ihren Grad, wohl weil es sich bei dem letzten Tier um einen im Wachstum zurückgebliebenen Hund mit stärkerer Empfindlichkeit handelte. Die Versuchstiere bekamen außerdem zusätzlich Lebertran und Nährsalz.

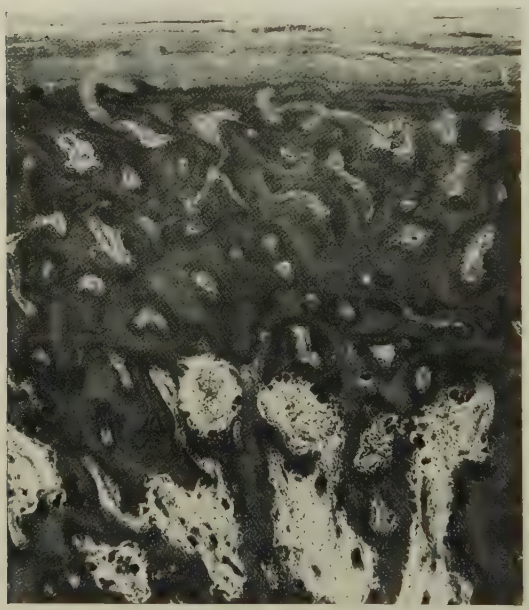


Abb. 4. Ostoklastische Resorptionszone unter der kompakten Außenschicht des Unterkiefers. (Tier der Versuchsreihe 3.)

Die mächtig verdickten Unterkiefer weisen eine bis zu $3^1/_2$ mm dicke, neu entstandene periostale Kompaktaschicht an der Außenseite auf (beim Kontrolltier höchstens $1^1/_2$ mm) und eine in demselben Verhältnis verdickte Spongiosa. Die kompakte Schicht besteht durchweg aus neugebildetem feinporigen Knochen von geflechtartigem Bau mit zahlreichen, zur Oberfläche senkrecht gerichteten engen Markräumen. Eine Andeutung von Lamellen ist nirgends zu bemerken. Kalklose Säume von beträchtlicher, aber ziemlich regelmäßiger Dicke bedecken die Oberflächen der Knochenbälkchen. Die Grenze zwischen unverkalktem und verkalktem Knochen ist zumeist durch eine ziemlich breite körnig-krümelige Zone dargestellt. Die Verkalkung ist recht unregelmäßig und läßt oft heller gefärbte Höfe um die Umgebung der Osteocyten frei.

An der Oberfläche unter der hohen zellreichen Keimschicht des Periosts findet nicht ausschließlich gesteigerter Anbau statt, sondern an vielen Stellen ist der Knochen oberflächlich ostoklastisch angenagt.

An der Grenze zwischen Kompakta und Spongiosa gehen regelmäßig ausgiebige Resorptionsvorgänge vor sich. Der durch die periostalen Wucherungen erfolgte Massenzuwachs der Rinde wird so durch die fortschreitende Porosierung bzw. Spongiosierung wieder ausgeglichen (Abb. 4). Innerhalb der Spongiosa gehen Anbau und Abbau anscheinend regellos

vor sich. Die hauptsächlich radiär zur Mitte des Kiefers strebenden Spongiosabälkchen sind — ebenso wie die bei den im vorigen besprochenen

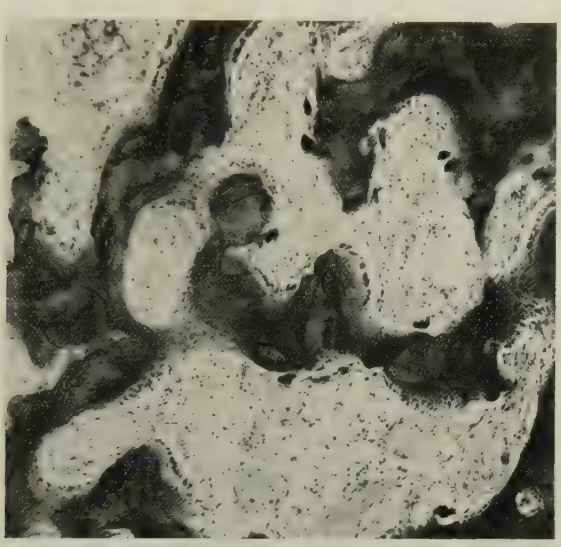


Abb. 5. Lebhafter Knochenumbau; Phlegmasie des Knochenmarkes in der Spongiosa des Unterkiefers. (Tier der Versuchsreihe 3.)

Abb. 6. Diploe des Schädeldaches. Starker Umbau, sehr unregelmäßige Verkalkung des Knochens; Phlegmasie des Knochenmarkes. (Tier der Versuchsreihe 3.)

Versuchstieren, nur in noch stärkerem Maße — bald mit dichten Osteoblastensäumen besetzt, bald von vielkernigen Riesenzellen angefressen (Abb. 5). Zahlreiche, die Knochenbälkchen durchsetzende Kittflächen zeigen Appositionsstillstände bzw. die Grenzen an, bis zu der die Resorption fortgeschritten war, um neuerlicher Knochenanlagerung Platz zu machen. Stellenweise haben An- und Abbau räumlich wiederholt nebeneinander abgewechselt, so daß manche Knochenbälkchen nur aus zahlreichen kleinen „Knochenbröckeln" zusammengesetzt sind (Abb. 5). Auch in der Spongiosa ist der Knochen grobfaserig, geflechtartig gebaut. Lamellare Struktur ist nur manchmal angedeutet. Die Verkalkungsverhältnisse entsprechen denen in der kompakten Substanz, nur erhält die Spongiosa dadurch, daß Knochenbälkchen oder -teile älteren Bestandes eine stärkere Blaufärbung zeigen als jüngerer Knochen, ein auffallend fleckiges Aussehen (vgl. auch Abb. 6 aus dem Schädeldach).

Das Knochenmark in den weiten Spongiosamaschen der Kieferknochen führt sehr zahlreiche sinusartige Gefäße, die oft ungewöhnlich stark mit Blut gefüllt sind. Das feine, an Schleimgewebe erinnernde Retikulum des Knochenmarkes enthält vereinzelte Anhäufungen blutbildender Zellen.

Die Röhrenknochen der Versuchstiere erweisen sich aus demselben jungen und geflechtartigen Knochen aufgebaut wie die Kieferknochen. An normalen Knochen erinnerndes Gewebe ist nicht mehr vorhanden. Die Knochen sind an den Ansatzstellen von Muskulatur und Sehnen verdickt und zeigen dort eine durch periostalen Zuwachs stark verbreiterte sklerotische Kompakta. An anderen mechanisch weniger beanspruchten Örtlichkeiten ist die Knochenrinde eher dünn und besitzt weite Markräume. Der auffallendste Befund an den Röhrenknochen aller drei Versuchstiere ist aber ein den osteoblastischen Anbau weit überwiegender Knochenabbau. Überaus zahlreiche mehrkernige Riesenzellen liegen an den verhältnismäßig schmalen Knochenbälkchen, die ungewöhnlich weite Markräume umgrenzen. Den Wachstumsfugen nahe gelegene Abschnitte erscheinen mit Ostoklasten geradezu übersät. Der starke Abbau gerade an den Epiphysengrenzen des Fluorknochens erklärt wohl das immer wieder beschriebene und auch von uns beobachtete Zurückbleiben der jungen Tiere im Wachstum.

Das Mark der langen Röhrenknochen ist unverändert.

Das Schädeldach ist bei allen drei Versuchstieren hochgradig verdickt und weist an der Innenfläche örtlich tiefe Einbuchtungen auf. Der Bau ist im Vergleich zu einem gewöhnlichen Schädeldach eher „aufgelockert" als sklerotisch. Weder die äußere noch die innere Glastafel sind besonders stark. Die Dickenzunahme betrifft hauptsächlich die Diploe. Vom Pericranium her wird neuer Knochen angelagert, doch finden sich besonders in der Gegend von Muskelansätzen Stellen, wo Ostoklasten die äußere Glastafel von außen her zum Großteil abgebaut haben. Gewöhnlich besetzten — ähnlich der ostklastischen Resorptionszone unter der Kompakta am

Kiefer (Abb. 4) — vielkernige Riesenzellen die Innenseite der äußeren Glastafel und wirken deren Dickenwachstum entgegen. Die innere Glastafel wird von der Dura her abgebaut, doch sind die Ostoklasten hier viel spärlicher. Anbau und Abbau, die an beiden Kompaktaschichten des Schädeldaches so vor sich gehen, daß von innen her Abbau, von außen Anbau erfolgt, bestehen in der Diploe ungeordnet nebeneinander. Im allgemeinen stimmen die Befunde im Schädeldach mit den Befunden an

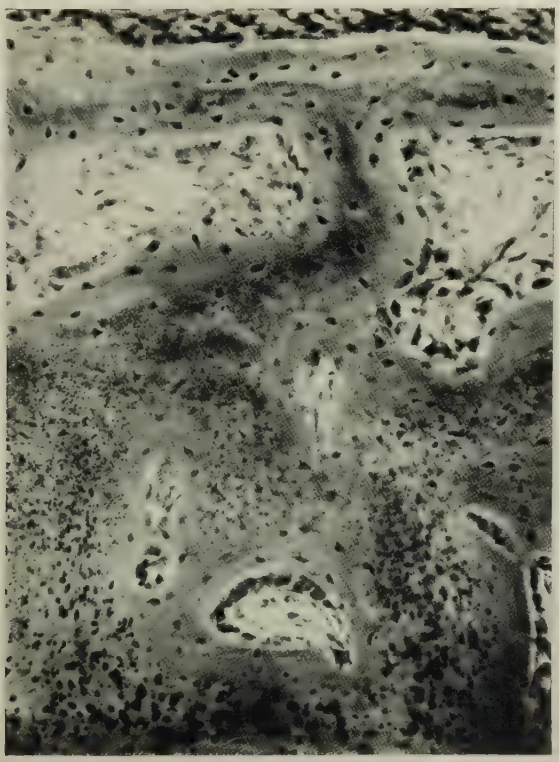


Abb. 7. Röhrenknochen. Gebiet nahe der periostalen Oberfläche. Übergang der groben „Kalkkörner" in die feinsten Körnchen der körnig-krümeligen Verkalkungszone. (Tier der Versuchsreihe 3.)

anderen Skeletteilen fast vollständig überein; mangelhaft verkalkter grobfaseriger Knochen mit unregelmäßigen Knochenkörperchen wird von zahlreichen Abbaulinien durchzogen (Abb. 6). Doch ist am Schädeldach öfter als sonst lamellärer Knochen und stellenweise Andeutungen von Haversischen Systemen zu beobachten. Die Knochenkanäle sind vielfach von breiten kalklosen Säumen begrenzt. Fast immer bilden körnig-krümelige Verkalkungszonen den oft sehr breiten Übergang zwischen verkalktem und unverkalktem Knochen. „Kalkkörner" finden sich nur bei einem der drei Tiere in den Röhrenknochen und in den Rippen abgelagert. Die Kalk-

körner zeigen eine ganz charakteristische Anordnung: im Innern der Knochen, in der Spongiosa und in der der Markhöhle naheliegenden Kompakta liegen Kalkkörner verschiedener Größe — oft sogar sehr große —, die häufig Osteocyten imprägnieren und auch deren Fortsätze zur Darstellung bringen, ziemlich wahllos innerhalb der Knochenbälkchen verstreut, während die äußersten Randanteile mit ihren kalklosen Säumen frei bleiben. Im Knochenmark liegen die Körner in allen Größen regellos verteilt, in Zellen, außerhalb von Zellen, in Gefäßen usw. Gegen den neugebildeten Knochen unter dem Periost zu werden die Kalkkörner immer kleiner. Schließlich findet im jüngsten Knochen knapp unter dem Periost ein fließender Übergang der bereits sehr kleinen Körner in eine körnig-krümelige Verkalkungszone statt, welche die Grenze zwischen dem noch unverkalkten Knochensaum und dem verkalkten Knochen darstellt (Abb. 7). Dieses Verhalten der körnigen Ablagerungen legt die Annahme nahe, daß es sich vielleicht um eine grundsätzlich gleichwirkende Verkalkungsstörung handelt, welche die rachitisähnlichen Veränderungen und die für die chronische Fluorvergiftung charakteristische Kalkkörnerablagerung hervorruft.

Versuchsreihe 4.

Die Hunde dieser Versuchsreihe sind schon größere Tiere von 5 bzw. $5^1/_2$ und 6,7 kg Gewicht. Zwei von ihnen erhielten täglich 0,1 g, einer 0,2 g Na F durch 3 Monate hindurch.

Die beiden mit der kleineren Dosis gefütterten Tiere zeigen gegenüber der Versuchsreihe 3 verhältnismäßig geringe Veränderungen. Die Gewichtszunahme lag unter der des Kontrolltieres (die Tiere wogen 12,5 bzw. 11,5 kg, das Kontrolltier 14,5 kg). Die Rinde der langen Röhrenknochen ist durch eine aufgelagerte sklerotische periostale Schicht lamellösen Knochens — man könnte von sehr stark ausgeprägten äußeren Generallamellen sprechen — beträchtlich verstärkt. Die Oberflächen der neugebauten Knochenbälkchen unter dem Periost besitzen kalklose Säume, die aber nicht das gewöhnliche Ausmaß überschreiten. Der Umbau bzw. die Resorption der alten Knochenrinde von der Markhöhle aus geht sehr langsam vor sich. Die inneren Grundlamellen sind in Resten noch erhalten und wohl ausgeprägte Osteone finden sich in großer Zahl. An den langsamer wachsenden Mittelfußknochen sind krankhafte Veränderungen überhaupt nicht nachweisbar. Auch die Kieferknochen zeigen keine ungewöhnlichen Verhältnisse.

Die Verkalkungsstörung gibt sich in dieser Versuchsreihe nur in Form der körnigen Ablagerungen kund, die merkwürdigerweise nur in einem Rippenstück zu finden waren. Die Kalkkörner liegen besonders in den Resten der verkalkten Knorpelgrundsubstanz in der Nähe der Knorpelknochengrenze der Rippe und etwas spärlicher in den Knochenbälkchen, nicht selten auch an deren Oberfläche, mit einer gewissen Vorliebe in Osto-

klasten und außerdem im Mark regellos verteilt. Die bevorzugte Lagerung in der Knorpelgrundsubstanz ließ sich auch bei anderen Versuchstieren beobachten.

Die verhältnismäßig geringe Dosis Natriumfluorid (0,1 g), die diese älteren Tiere erhielten, verursachte also nur geringe Knochenveränderungen. Dagegen sind die Veränderungen des 5 kg schweren Hundes, der täglich 0,2 g NaF bekam, sehr ausgeprägt. Die Vorderfüße waren bedeutend verdickt und verkrümmt, die Stirnknochen traten stark hervor. Mikroskopisch erweisen sich alle untersuchten Skeletteile aus neugebildeten Knochen aufgebaut, der aber bereits vielfach lamellöse Struktur aufweist.

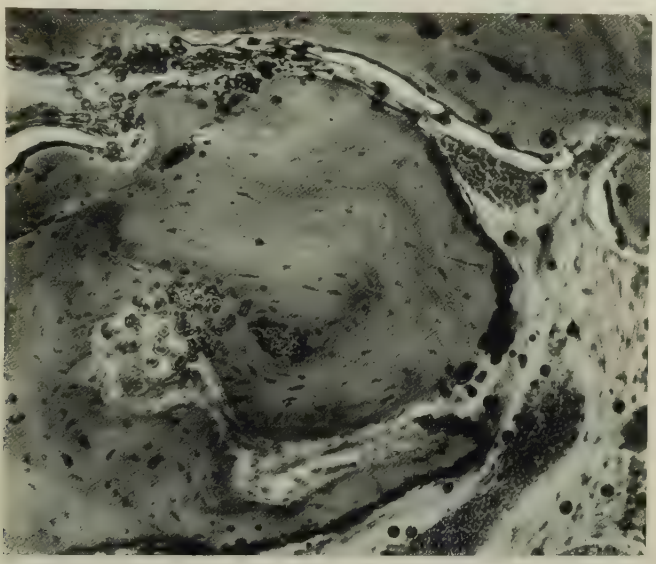


Abb. 8. Spongiosa des Unterkiefers. Links im Bilde wenig entkalkte „körnige" Ablagerungen mit deutlichem kristallinen Kern, rechts entkalkte dunkel gefärbte Kugeln an der Oberfläche der Knochenbälkchen und im Mark. (Tier der Versuchsreihe 4.)

Auf den noch deutlich erkennbaren ursprünglichen Grenzflächen des Unterkiefers baut sich eine mächtige dichte periostale Wucherung auf, die den Knochen um das Doppelte verdickt. Die Anlagerung zeigt wieder einen Aufbau aus einer dicken Kompaktaschicht und einer sehr engmaschigen Spongiosalage. Unter der „Kompakta" fehlt die sonst vorhandene ostoklastische Resorptionszone fast ganz. Das Überwiegen der Osteoblastentätigkeit gegenüber den Knochenfreßzellen drückt sich in einem viel dichteren Bau des Knochens aus, als es bei den bisher untersuchten Hunden der Fall war. Die eng stehenden Spongiosabälkchen sind von zahlreichen Kittlinien durchzogen, die auch hier den teils lamellär, teils geflechtartig gebauten Knochen aus vielen Bruchstücken zusammengesetzt erscheinen lassen.

Die Verkalkungsstörung offenbart sich in manchmal sehr breiten kalklosen Säumen mit der charakteristischen körnig-krümeligen Verkalkungszone (an der Grenze zwischen verkalktem und unverkalktem Knochen) und in einer sehr unregelmäßigen Verkalkung der Knochengrundsubstanz. In der Spongiosa sind oft körnig verkalkte Inseln zu sehen, die ein oder mehrere Knochenkörperchen enthalten, Bilder, wie sie bei Osteomalacie und Rachitis häufig angetroffen werden (Pommer). Die andere

Abb. 9. Unterkiefer. Knochenkörperchen samt Ausläufern durch feine und gröbere Kalkkörner dargestellt. (Tier der Versuchsreihe 4.)

Form der Verkalkungsstörung, die Kalkkörnerablagerung hat sich bei diesem Tier sehr stark entwickelt. Dunkelgefärbte Körner der verschiedensten Größen liegen in allen Teilen der untersuchten Knochen, gewöhnlich unter Freilassung der jüngsten Anlagerungen. Vielfach sind die Gefäße des Knochenmarks so dicht mit Kalkkugeln angefüllt, daß man sich fragen muß, wie noch Blut in diesen Gefäßen strömen konnte (vgl. Brandl und Tappeiner). An der Oberfläche von Knochenbälkchen liegen oft reichliche Ansammlungen von verschieden großen Körnern (Abb. 8, rechts im Bilde). Manche Osteocyten sind samt ihren anastomosierenden Fortsätzen durch feinste aneinander gereihte Körnchen dargestellt (Abb. 8). Bei anderen

Versuchstieren war die Kalkimprägnation der Knochenkörperchen nicht in Körnchenreihen aufzulösen.

In den Knochen dieses Tieres entgingen, wahrscheinlich infolge der Reichhaltigkeit der Ablagerungen und infolge des Schutzes durch den sklerotischen Knochen, die Kalkkörner stellenweise der Auflösung durch die Entkalkungsflüssigkeit und sind als farblose kristalline Körnerhaufen oder Einzelkörner erhalten geblieben. Tiefdunkelblau gefärbte Kugeln

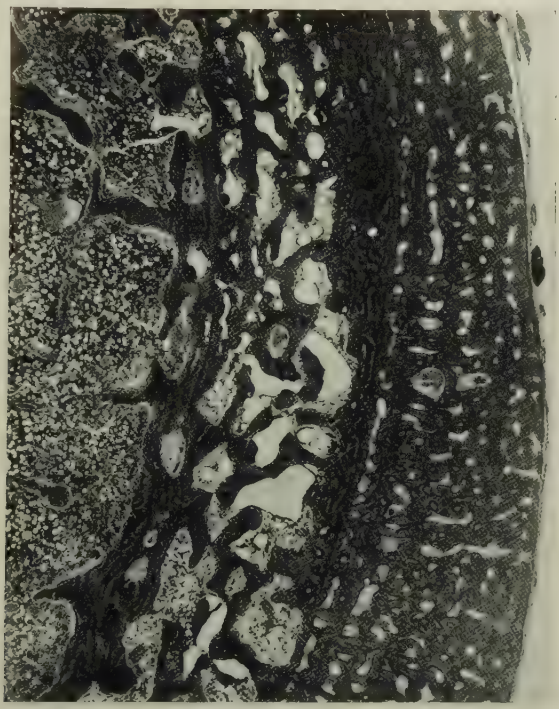


Abb. 10. Röhrenknochen. Mächtige sklerotisch gebaute periostale Auflagerungen. Zunehmende Porosierung der älteren Rindenanteile. (Tier der Versuchsreihe 4.)

deuten auf eine vollständige Entkalkung, während blaßblau gefärbte Körner noch kalkhaltig sind und häufig einen stärker lichtbrechenden farblosen kristallinen Kern mit schwach angefärbtem Hof besitzen (Abb. 8, links). Es besteht der Anschein, als ob die durch das Hansen-Bocksche Hämatoxylin dargestellten Körner einen größeren Raum einnähmen als der ursprünglichen Größe der kristallinen Ablagerung entsprechen würde. Vollständig unversehrte Kristalle sind überhaupt nicht färbbar. Sie zeigen gewöhnlich unregelmäßige Oberflächenumrisse. Die mit Hämatoxylin färbbaren Ablagerungen sind somit zum Teil wohl Kunstprodukte, die mit den tatsächlichen Verhältnissen nicht ganz übereinstimmen. Im ungefärbten Präparat sind die unentkalkten Ablagerungen entweder als größere Kristalle,

manchmal in Rosettenform, zusammengelagert, oder häufiger als körnige Massen besonders in Gefäßen und an den Oberflächen von Knochenbälkchen zu erkennen. Auch ohne Färbung tritt der Unterschied zwischen unentkalkten und entkalkten Ablagerungen deutlich hervor, da letztere gewöhnlich aus kugeligen Gebilden bestehen, die durchschnittlich die Größe von zwei bis drei roten Blutkörperchen erreichen und größer und regelmäßiger als die noch kalkhaltigen Körner erscheinen.

Die chemische Natur der kristallinen Ablagerungen ist noch unbekannt. Brandl und Tappeiner hielten sie für CaF_2. Henschen gibt auch an, daß Flußspatkristalle (CaF_2) die Haversischen Kanäle und die Spongiosa dicht anfüllten.

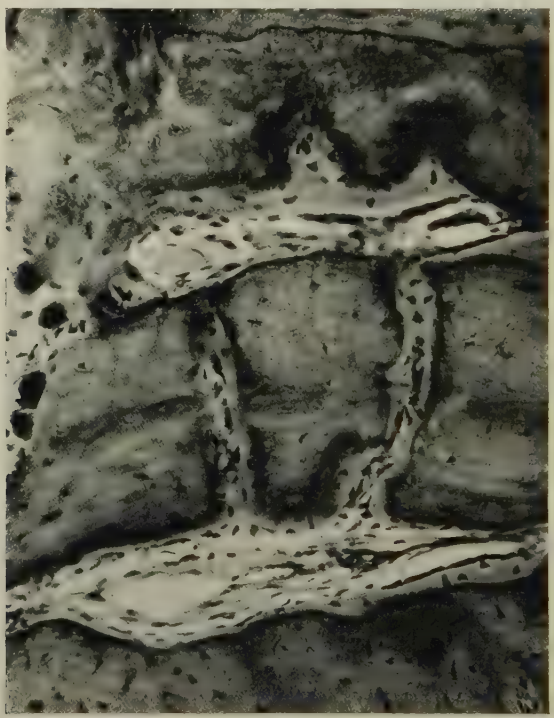


Abb. 11. Aus demselben Schnitt wie Abb. 10. Gebiet aus der älteren Knochenrinde. Breite kalklose Säume an der Oberfläche der Knochenbälkchen und als Begrenzung zweier durchbohrender Kanäle. Breite körnig-krümelige Verkalkungszonen. Der Knochen teilweise ungeordnet gebaut.

Daß die Kristalle Kalk enthalten, geht mit Sicherheit daraus hervor, daß sich im Schnitt bei Einwirkung von 3prozentiger Schwefelsäure einwandfreie Gipskristalle an Stelle der Ablagerungen bilden. Ob Fluor das gesuchte Anion ist, kann nicht entschieden werden.

Die langen Röhrenknochen sind durch sehr dicke, dicht gebaute periostale Knochenwucherungen, die eine zur Markhöhle konzentrische Schichtung aufweisen, verstärkt (Abb. 10). Der Rest der alten Knochenrinde erscheint in der Struktur dem normalen Knochen noch ähnlich, ist aber

zweifellos in der Fluorfütterungsperiode schon umgebaut. Die Dicke des Rindenrestes ist im Verhältnis zu den periostalen Wucherungen gering (Abb. 10) und die Befunde gesteigerter lakunärer Resorption an der Innenseite beweisen, daß ihr Umbau von der Markhöhle aus in stetem Fortschreiten begriffen ist. Daß nicht mehr der ursprüngliche Knochen vorliegt, geht aus der unregelmäßigen Lage der verschieden großen Knochenkörperchen, dem oft unvollständigen Ausbau der Lamellensysteme und schließlich aus der ungleichmäßigen Verkalkung der Grundsubstanz hervor. Besonders deutlich treten die körnig-krümeligen Verkalkungszonen an den kalklosen Säumen hervor (Abb. 11). Im ganzen ergeben Kiefer- und Röhrenknochen das Bild der „Fluorsklerose".

Am Schädeldach des Tieres ist weniger die Verkalkungsabweichung oder die Sklerose ausgebildet als vielmehr der für die chronische Fluorvergiftung so kennzeichnende gesteigerte Umbau. Zahlreiche buchtig begrenzte Abbaukittflächen lassen innerhalb der Knochenbälkchen wahllos lamellär gebaute Knochenstückchen an geflechtartigen Knochen grenzen.

Versuchsreihe 5.

Eine gesonderte kurze Besprechung verdienen noch die Befunde bei dem Tier der 5. Versuchsreihe, das von der vierten Lebenswoche an 2 Monate lang täglich mit 0,1 g NaF, darauf 1 Monat mit 0,3 g und dann noch 5 Wochen lang mit 0,5 g NaF gefüttert und im Alter von 5 Monaten getötet wurde. Das Tier blieb im Wachstum außerordentlich stark zurück und wog 5 Monate alt nur 3,3 kg gegen 8 kg des Vergleichstieres. Die untersuchten Skeletteile bestehen durchweg aus geflechtartig gebautem Knochen. Die Rinde der Röhrenknochen ist teilweise sehr dicht gebaut und besitzt zahlreiche gefäßführende Kanäle. Doch ist die Sklerose mikroskopisch nicht so deutlich wie bei dem vorher besprochenen Versuchstier der Reihe 4.✗ Was die Knochen dieses Tieres besonders auszeichnet, sind die ungewöhnlich starken Kalkkörnerablagerungen, die in allen untersuchten Schnitten in ziemlich gleichmäßiger Verteilung anzutreffen sind. Wieder tritt die Größenordnung zutage: die Kalkkörner werden gegen den erst jüngst gebildeten Knochen unter dem Periost zu immer kleiner, um schließlich in eine körnige Verkalkungszone überzugehen. In den Markräumen, seltener in den Knochenbälkchen, sind die Ablagerungen in örtlicher Ausdehnung der Entkalkung entgangen und zeigen dieselben Eigentümlichkeiten wie oben beschrieben. Die bei diesem Hund untersuchten Wirbelkörper weisen dieselben Veränderungen auf wie die übrigen Knochen. In den Randgebieten der Zwischenwirbelscheiben finden sich geringe Ablagerungen von Kalkkörnern, auch im Faserknorpel des Annulus fibrosus.

Die Wirkung der hohen Fluordosis war also im wesentlichen eine ganz besonders starke grobkörnige Kalkausfällung im Skeletsystem. Eine Auswirkung auf den Bau der Knochen, die sich aus dem Rahmen der bislang

beschriebenen Veränderungen hervorhebt, war nur insofern festzustellen, als das Knochengewebe einen ganz besonders unregelmäßigen Bau aufwies und Lamellensysteme nicht einmal andeutungsweise zur Ausbildung gelangten.

Ergebnisse.

Nach anhaltender Fluorverabreichung stellte sich bei allen 12 Versuchstieren übereinstimmend ein starker Knochenumbau ein, in dessen Verlauf der alte lamelläre Knochen abgebaut und durch neuen geflechtartigen Knochen ersetzt wurde. Der Umbau erfolgt um so rascher und ausgiebiger, je größer die verabreichte Fluormenge ist, hat aber keineswegs immer die Ausbildung einer allgemeinen „Fluorsklerose" zur Folge. Es überwiegen manches Mal sogar die Abbauvorgänge, so daß eine m. o. w. ausgebreitete Osteoporose zustande kommt. Eine Fluorsklerose trat nur bei einem älteren, wenn auch noch nicht ganz erwachsenen Versuchstier auf, das eine verhältnismäßig geringe Fluormenge erhalten hatte. Dieses Vorkommnis steht im Einklang mit den Angaben Roholms, daß Fluorsklerose nur bei erwachsenen Individuen nach Zufuhr geringer Fluormengen zur Ausbildung gelangt.

Im Verlauf der Fluorvergiftung bilden sich namentlich an Muskel-, Sehnen- und Fascienansätzen und im besonderen an der Außenseite der Unterkiefer periostale Knochenwucherungen von oft ganz bedeutenden Ausmaßen. Diese aus ungeordnetem Knochengewebe aufgebauten Wucherungen lassen meist zwei Schichten unterscheiden, eine dichter gebaute Außenschicht und eine mehr spongiöse Innenschicht. Letztere entsteht durch lebhaften Umbau, vorwiegend Abbau ursprünglich dichterer Anteile, wie auch der alte Knochen, auf dem die Auflagerungen ruhen, mehr und mehr dem Abbau verfällt. Roholm spricht von einer Atrophie der Spongiosa und des zentralen Teiles der Kompakta und lebhafter periostaler, seltener endostaler Apposition von Knochengewebe mit irregulärer Struktur. Es liegt demnach eine exzentrische Hypertrophie des Knochens vor, die später sogar von mehr oder weniger ausgiebigen atrophischen Vorgängen gefolgt sein kann.

Sowohl in den periostalen Auflagerungen wie auch im Knochen alten Bestandes (des Schädeldaches, der Röhrenknochen) erscheinen die Oberflächen der Bälkchen von breiten kalklosen Anlagerungssäumen umkleidet, wobei der Übergang in den verkalkten Knochen häufig durch eine Zone körnig-krümeliger Verkalkung dargestellt wird. Derartige körnige Zonen umgeben oft auch einzelne oder Gruppen unregelmäßig geformter Osteocyten.

Zwei ganz junge Versuchstiere wiesen auch eine Störung der enchondralen Verknöcherung an der Knochenknorpelgrenze der Rippen auf, wo mangels einer präparatorischen Verkalkungszone der Abbau des Groß-

zellenknorpels örtlich unterblieben ist, wodurch die Ossifikationsgrenze einen unregelmäßig gezackten Verlauf erhält.

Derartige Befunde — ungewöhnlich breite kalklose Anlagerungssäume, Ossifikationsstörungen — gleichen den Veränderungen bei Rachitis. So wie bei Rachitis scheinen auch bei der Fluorvergiftung Verhältnisse vorzuliegen, die einer Ablagerung der Kalksalze, wenn nicht überhaupt, so doch einer solchen in geordneter Weise entgegenstehen. Die periostalen Wucherungen können so wie bei Rachitis als Versuch eines funktionellen Ausgleiches der herabgeminderten Knochenfestigkeit gewertet werden, was aus ihrem Auftreten an mechanisch besonders beanspruchten Skeletstellen erhellt.

Über den Einfluß des Fluors auf den Kalkstoffwechsel wissen wir aus den Untersuchungen Lipmanns, daß Fluoride die Wirkung der Phosphatasen hemmen. In vitro erstreckt sich die Hemmung aber nur auf die „sauren" Phosphatasen, nicht aber auf die „alkalischen". Bei der Verkalkung dürfte die wesentliche Rolle den alkalischen Phosphatasen zufallen. Von den zwei Vorgängen, die nach Robison bei der Verkalkung zu unterscheiden sind: 1. die Spaltung der Phosphorsäureester durch die alkalischen Phosphatasen und die Sättigung der Gewebsflüssigkeit mit Knochensalzen, 2. die Ausfällung und Ablagerung der Calciumsalze in der Grundsubstanz des Gewebes — ist der zweite gegen NaF überaus empfindlich, während der erste nicht beeinflußt wird (Roholm). Diese Art der Fluorwirkung würde es verständlich machen, daß beim noch im Wachstum begriffenen Versuchstier die der Rachitis so ähnliche Verkalkungsstörung zustande kommt. Zudem erhöht ein großer Calciumbedarf des Organismus, wie er zur Zeit des Wachstums besteht, die Empfindlichkeit gegenüber Fluor (Roholm), das das Calcium des Blutes und der Gewebsflüssigkeit durch Bildung schwer löslicher CaF_2 beschlagnahmt (Roholm). In großen Dosen erzeugt Fluor eine negative Kalkbilanz, die auch in der mehr oder weniger ausgesprochenen Tetanie zum Ausdruck kommt. Bei der chronischen Fluorvergiftung, die Osteoporose hervorruft, ist eine verringerte Retention von Calcium und Phosphor nachgewiesen.

Es bestehen aber auch noch andere Parallelen zur Rachitis. Schwere rachitische Knochenveränderungen, im besonderen periostale Auflagerungen werden nach Abheilung der floriden Erkrankung in sklerotischen Knochen umgebaut, wobei der ursprüngliche Knochen einer Atrophie verfällt. Die Knochenveränderungen, die als Fluorsklerose bezeichnet werden dürfen und nur unter bestimmten früher genannten Bedingungen sich zu ergeben scheinen, gleichen in wesentlichen Belangen der Osteosklerose nach abgeheilter Rachitis. Beim Vergleich und bei der Bewertung der Befunde darf selbstredend nie außer acht gelassen werden, daß es sich bei den vorliegenden Versuchen um Knochenveränderungen handelt, die in wenigen Monaten auftraten,

während eine entsprechende spontane Rachitis ein mehrfaches dieses Zeitraums zur Ausbildung benötigt.

Allerdings haben wir bei unseren Versuchen noch nicht die möglichen Endstadien der Erkrankung vor uns. Auch ist zu bedenken, daß Lebensalter und zeitlicher Ablauf biologischer Vorgänge (Verknöcherung!) bei Tier und Mensch nicht gleichgesetzt werden dürfen. So ist die Verschiedenheit in der Dauer der Knochenentwicklung bei Mensch und bei Tieren zu berücksichtigen, die beim Hund z. B. $13^1/_2$mal so schnell vor sich geht wie beim Menschen (Marek und Wellmann). Die Entwicklung des Skelets eines $^1/_2$ bzw. 2jährigen Kindes ist dem Entwicklungsgrad im zweiten Fetalmonat bzw. 3 Wochen nach der Geburt beim Hunde gleichzusetzen. Auch in der Bewertung der Resorptionsbefunde sind diese Verhältnisse zu berücksichtigen, insofern, als in den ersten Lebenswochen bis zum Alter von mehreren Monaten bei Tieren im allgemeinen sehr reichliche Ostoklasten angetroffen werden. 2—8 Ostoklasten in jedem Gesichtsfeld bei 300facher Vergrößerung sind nach Marek und Wellmann ein ganz gewöhnlicher Befund, oft werden aber auch bis 20 und mehr derartige Zellen im Gesichtsfeld und 20—50 zu beiden Seiten eines Knochenbälkchens gezählt. Im allgemeinen hält die Menge der Ostoklasten gleichen Schritt mit der jeweiligen Raschheit der Knochenentwicklung bzw. der einzelnen Knochenabschnitte und mit dem Grade der mechanischen Beanspruchung.

Aber auch nach Berücksichtigung dieses gegenüber dem Menschen als physiologisch anzusehenden verstärkten Abbaues bzw. Umbaues ergibt sich als Wirkung der chronischen Fluorvergiftung ein erhebliches Überschreiten dieser Vorgänge. Dies geht eindeutig aus dem vielfach nahezu völligen Aufbrauch der ursprünglichen Kompakta und der periostalen Massenzunahme hervor.

Die hyperostotisch-sklerotischen Knochenveränderungen, wie sie erfahrungsgemäß nur am ausgewachsenen Tier beobachtet werden und ihr Gegenstück in der als Berufskrankheit bekannten Osteosklerose der Kryolitharbeiter haben, scheinen sich aus dem „rachitischen" Stadium zu entwickeln, wie durch die Versuchsreihe 4 nahegelegt wird. Waren bei diesen Tieren auch die überbreiten kalklosen Säume nicht durchwegs und gleichmäßig vorhanden, so beweisen die Verkrümmungen der Extremitätenknochen, daß ein „weiches" Stadium vorausgegangen sein muß. Bei der Fluorsklerose erfolgt eine bedeutende Mineralablagerung bei positiver Kalkbilanz (Roholm). Das Knochengewebe absorbiert und fixiert die Fluoride in reichlichem Maße.

Schließlich ist als kennzeichnendes Merkmal der chronischen Fluorvergiftung die kristalline Ablagerung von Kalksalzen in den Knochen zu vermerken. Größere Kristalle oder körnige kristalline Massen finden sich verschieden reichlich im Knochenmark, in Gefäßen, an der Oberfläche von Knochenbälkchen usw. Bei Einwirkung von 3 %iger Schwefelsäure bilden sich an ihrer Stelle Gipskristalle. Nach der Entkalkung

erscheinen die Kristalle vielfach etwas vergrößert als Kugeln, die sich stark mit Hämatoxylin färben. Zwischen diesen groben kristallinen Ausfällungen und der fein gefällten körnig-krümeligen Verkalkungszone zwischen unverkalktem und verkalktem Knochen finden sich klare Übergänge. Die großen Körner werden gegen das Periost zu immer kleiner und gehen schließlich in die feinsten Körnchen der körnig-krümeligen Verkalkungszone über, ein Befund, der die Annahme erlaubt, daß auch die groben kristallinen Kalkablagerungen im Knochen im Rahmen der rachitisähnlichen Verkalkungsstörung bei der Fluorvergiftung zu betrachten sind.

Zusammenfassung.

Fluorverabreichung an 12 junge Versuchshunde rief am Skelet einen krankhaften Zustand mit gestörter Kalkablagerung hervor, der in mancher Hinsicht der Rachitis ähnlich ist.

Länger dauernde Verabreichung an Tiere mit weiter vorgeschrittenem Wachstum bewirkt ein Überwiegen der sklerosierenden Vorgänge und die reichliche Ablagerung grobkörnig ausgefällter Kalksalze in Form der sogenannten „Kalkkörner".

Schrifttum.

Askanazy, M.: Beitr. path. Anat. **84**, 375 (1930). — Brandl, J., u. H. Tappeiner: Z. Biol. **28**, 518 (1891). — Brinch, O.: Z. Stomat. **35**, 890 (1937). — Dittrich, W.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **168**, 319 (1932). — Henschen, C.: Schweiz. med. Wschr. **1937**/I, S. 153, 182, 202, 223. — Jodlbauer u. v. Stubenrauch: Sitzgsb. Ges. Morph. u. Physiol. Münch. **18** (1902). — Lantz u. Smith: Zit. nach Smith u. Lantz: J. amer. dent. Assoc. etc. **22** (1935). — Marek u. Wellmann: Die Rachitis. Jena, G. Fischer, 1931. — Lipmann, F.: Biochem. Z. **196**, 3 (1928). — Pachaly, W.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **166**, 1 (1932). — Philips: Zitiert nach Roholm. — Pommer, G.: Untersuchungen über Osteomalacie und Rachitis. Leipzig, F. C. W. Vogel, 1885. — Roholm, K.: Klin. Wschr. **1936**/II, S. 1425; Arch. Gewerbepath. **7**, 255 (1936). — Roholm, K.: J. industr. Hyg. a. Toxicol. (Am.) **19**, 126 (1937); Arbeitsmedizin, Heft 7. Leipzig, J. A. Barth, 1937; Handb. d. exper. Pharm. Ergänzungswerk **7**, 1 (1938). — Rost, E.: Arch. Gewerbepath. **8**, 256 (1937). — Smith u. Smith: J. amer. dent. Assoc. etc. **22** (1935). — Sutro, Ch. J.: Arch. Path. (Am.) **19**, 159 (1935).

Aus dem Wissenschaftlichen Laboratorium der C. F. Boehringer und Soehne G. m. b. H., Mannheim-Waldhof.

Die angebliche oestrogene Wirkung des Yohimbins.

Von

H. E. Voss.

(Eingegangen am 20. April 1939.)

Seit einer Reihe von Jahren schleppt sich durch das Schrifttum die Angabe von Ludwig und von Ries[1], daß das Yohimbin eine oestrogene Substanz sei, d. h. daß man mit einer ausschließlichen Yohimbin-Behandlung bei Nagerweibchen eine typische vaginale Vollbrunst hervorrufen könne. Diese Behauptung findet sich z. B. auch noch in dem soeben (1939) erschienenen sehr kritischen Buch von Bomskov[2] über die Methodik der Hormonforschung als Tatsache wiedergegeben (S. 127).

Daß diese Behauptung der oestrogenen Wirkung des Yohimbins sich so lange halten konnte, ist um so verwunderlicher, als bereits vor der Veröffentlichung der Beobachtungen von Ludwig und von Ries Arbeiten vorlagen, die auf Grund sehr verschiedenartiger Untersuchungen dem Yohimbin jegliche oestrogene Wirksamkeit absprachen. So hatte Klein[3] in Versuchen an kastrierten Kaninchenweibchen zeigen können, daß eine Behandlung mit täglich 12—24 mg Yohimbin-Chlorhydrat im Laufe von 8—21 Tagen keine oestrale Wirkung auf den Uterus der kastrierten Tiere ausübe; Klein, der seine Versuche zum Zwecke der Aufklärung des Wirkungsmechanismus des Follikelhormons anstellte, schloß aus dem Ergebnis mit Recht, daß die Hormonwirkung keinesfalls eine einfache Hyperämiewirkung sein könnte. Im gleichen Jahre (1927) teilten Loewe, Lange, Voss und Paas[4] die Resultate ausgedehnter Versuche an weiblichen Mäusen, Ratten und Meerschweinchen mit, die ohne Ausnahme ergaben, daß selbst sehr hohe Dosen (bis zu 750 γ) Yohimbin weder bei kastrierten Tieren eine Brunst hervorrufen, noch bei normalen Tieren die Brunst intensivieren oder häufiger gestalten, noch bei infantilen Tieren eine Pubertas praecox bewirken, noch schließlich bei normalen, aber hyphormonotischen Weibchen die anormalen Brunstverhältnisse zu regularisieren imstande sind. Das Yohimbin hat also nach diesen Untersuchungen weder eine direkte oestrogene Wirkung an der Vagina und dem Uterus, noch kann es indirekt über das Ovarium die Brunstvorgänge fördernd beeinflussen.

[1] Ludwig, F., u. I. von Ries: Arch. Gynäk. **144**, 280—282 (1931). — [2] Bomskov, Chr.: Methodik der Hormonforschung, Bd. 2 (1939), Leipzig. — [3] Klein, M.: C. r. Soc. Biol. **97**, 299 (1927). — [4] Loewe, S., F. Lange, H. E. Voss u. E. Paas: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **122**, 366—384 (1927).

Als Ludwig und von Ries mitteilten, daß es ihnen gelungen sei, bei 6—8 g schweren infantilen Mäuseweibchen durch Injektion von 50—100 γ Yohimbin einen vaginalen Oestrus hervorzurufen, waren ihnen diese Arbeiten ihrer Vorgänger augenscheinlich unbekannt geblieben, sonst hätten sie sich offenbar kritischer zu ihren Beobachtungen einstellen müssen und nach einer Erklärung für den Widerspruch gesucht. So aber blieb es Druckrey[5] vorbehalten, in seiner soeben erschienenen Arbeit eine Nachprüfung der Befunde von Ludwig und von Ries zu veröffentlichen, die ein vollkommen negatives Ergebnis hatte: weder bei dem Versuchstier jener Autoren, der infantilen Maus, noch auch bei erwachsenen kastrierten Ratten konnte er mit den gleichen Dosen wie jene die geringste oestrogene Wirkung hervorrufen.

Die Veröffentlichung von Druckrey gibt mir den Anlaß, ähnliche Versuche kurz mitzuteilen, die zum Teil schon vor längerer Zeit angestellt wurden, zum anderen Teil aber erst jüngst nach der Lektüre des oben erwähnten Passus im Bomskovschen Buche durchgeführt wurden. Auch ich konnte an Gruppen von je 10 kastrierten weiblichen Mäusen mit Gesamtdosen von 50, 100 und 200 γ Yohimbin-Boehringer, über 2 Tage verteilt, auch nicht die geringste Andeutung von oestralen Veränderungen im Vaginalabstrich feststellen; die gleichen Mäusegruppen gaben 2 Wochen später im Kontrollversuch mit dem Internationalen Standard-Präparat des Oestrons in einer Dosis von 0,3 γ volle Oestruswirkung*: von den 30 Mäusen zeigten 26 Volloestrus und 4 prooestrale Erscheinungen. Auch Versuche an infantilen Rattenweibchen, mit Dosen von 200 und 400 γ Yohimbin täglich im Laufe von 3 Tagen gegeben, verliefen vollkommen negativ.

Wenn somit durch die Versuche von Druckrey und die hier mitgeteilten, in Bestätigung der früheren Untersuchungen von Loewe, Lange, Voss und Paas, das Fehlen jeglicher oestrogenen Wirkung beim Yohimbin nachgewiesen ist, so bleibt dennoch die positive Beobachtung von Ludwig und von Ries bestehen, und es muß nach einer Erklärung für diese scheinbare oestrogene Wirkung gesucht werden. Druckrey glaubt, daß es sich bei den infantilen Mäusen von Ludwig und von Ries um eine Kolpokeratose gehandelt habe, also um eine Verhornung des Vaginalepithels infolge Mangels an Vitamin A. Eine solche Möglichkeit ist anzuerkennen, aber meiner Ansicht nach bei normalen infantilen Mäusen, die, wenn sie ein Gewicht von 6—8 g erreicht haben, meist eben erst entwöhnt wurden und nicht viel über 3 Wochen alt sein dürfen, recht unwahrscheinlich; jedenfalls habe ich unter den Hunderten von infantilen Mäuseweibchen dieses Gewichts, die ich gelegentlich der Anstellung der Aschheim-Zondekschen

---

[5] Druckrey, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **192**, 85—89 (1939).

* Die Versuche wurden im Februar durchgeführt, also zu einer Zeit der jahreszeitlich herabgeminderten Hormonempfindlichkeit der Mäuse [vgl. dazu J. Duszynska: Nature (Brit.) II, S. 673—674 (1938)].

Schwangerschaftsreaktion untersucht habe, nie eine Kolpokeratose feststellen können. Ich glaube daher, daß die Erklärung für die positiven Befunde eines Oestrus nach Yohimbinbehandlung durch Ludwig und von Ries darin zu suchen ist, daß ihre Mäuse zwar dem Gewicht nach noch infantil waren, dem Alter nach aber über das infantile Stadium hinaus waren und bereits die ersten physiologischen Brunstgänge zeigten; auf diese Gefahr ist von verschiedener Seite hingewiesen und daher gefordert worden, die Aschheim-Zondeksche Reaktion an Mäusen anzustellen, die nicht nur im Gewicht den Forderungen entsprechen, sonderen deren Alter auch genau bekannt ist.

Man kann nur hoffen, daß nach diesen Feststellungen das Märchen von der oestrogenen Wirkung des Yohimbins endlich aus dem Schrifttum verschwindet.

Zusammenfassung.

Das Schrifttum zur Frage der oestrogenen Wirksamkeit des Yohimbins wird besprochen. In neuen Versuchen wird gezeigt, daß Gesamtdosen von $50-200\,\gamma$ an der kastrierten weiblichen Maus und von $600-1200\,\gamma$ an der infantilen weiblichen Ratte in oestrogener Hinsicht vollkommen unwirksam sind.

Aus der Inneren Abteilung des Gertrauden-Krankenhauses zu Berlin-Wilmersdorf.
(Leiter: Prof. Dr. S. Lauter.)

Veränderungen im Fett-, Wasser- und Trockensubstanzgehalt im Fettgewebe von Ratten unter verschiedenen Ernährungsbedingungen*.

Von

E. Cremer.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 20. April 1939.)

Das Fettgewebe stellt einen bedeutenden Teil der Gesamtmasse des tierischen Organismus dar. Es dient zum Teil als Gleitpolster, zum Teil als Wärmeschutz und vor allem als Nahrungsspeicher. Als solcher spielt es bei den Tieren die gleiche Rolle wie bei den Pflanzen die Stärkedepots. Bei manchen Warmblütern (z. B. dem Menschen, den Wassersäugern, dem Hausschwein) kommt es vielleicht mit dem Verlust des Haarkleides im Dienst der Wärmeregulation zu einer besonders starken Entwicklung des subcutanen Fettgewebes. Die Bedeutung des Fettes als Nahrungsreserve überwiegt aber auch bei diesen Organismen die Aufgabe als Wärmespeicher. So werden im Hunger die subcutanen Fettpolster ohne Rücksicht auf die Verschlechterung der physikalischen Wärmeregulation eingeschmolzen.

Die Angaben über die Zusammensetzung des Fettgewebes als Träger des Depotfettes sind spärlich und verschieden. Muskulatur und andere Organe zeigen einen relativ konstanten Gehalt an den einzelnen Baustoffen. Nach Bozenraad (1) weisen die Fettdepots gutgenährter Menschen im Mittel einen Wassergehalt von 13% auf, die von abgemagerten Individuen einen solchen von 28%. Einem Minimum von 7% Wasser steht ein Maximum von 46% gegenüber. Proben von denselben Personen, aber von verschiedenen Körpergegenden, zeigen ebenfalls eine Verschiedenheit, die aber nicht so ausgesprochen ist. Schirmer (2) untersuchte das Bauchwandfettgewebe von 47 Sektionsfällen und bestätigte den Befund von Bozenraad. Bei einem Wassergehalt von 5–71% war das Fettgewebe von Abgemagerten fast immer besonders wasserreich. Allerdings wurde auch bei einzelnen Personen in gutem und mittlerem Ernährungszustand ein hoher Wassergehalt (bis 52%) beobachtet, umgekehrt bei mageren Individuen ein solcher von nur 11–14%. Der fettfreie Trockenrückstand war bei dem fettärmeren Material durchweg größer. In neuerer Zeit wurde von

* D 11.

Wetzel, Wollschitt, Ruska und Oestreicher (3) in mehreren Arbeiten über den Eiweiß-, Wasser-, Fett- und Kohlehydratgehalt der Organe und Gewebe von Ratten auch die Zusammensetzung des Fettgewebes bei Normaltieren und im Hunger untersucht. Sie fanden bei normal ernährten Tieren im Hodenfett 7,1% (5,1 -10,0%)* Wasser, im Mesenterialfett 25,2% (10,5—36,9%). Der Eiweißgehalt war 2,17% (1.3 -4.0%), der Fettgehalt 81,8% (70,0—89,1%). Bei Nahrungsentzug konnten am Fettgewebe typische Veränderungen beobachtet werden. Ebenso wie Leber und Haut nahmen die Fettdepots rascher als die übrigen Organe ab. Mit fortschreitendem Hunger stieg der prozentuale Wasseranteil des Gewebes an. Die Fettabnahme in den Depots erfolgte ziemlich gleichmäßig. Der absolute Eiweißgehalt wurde ebenfalls geringer, da aber die Fettabwanderung mengenmäßig überwog, stieg er ebenso wie der Wassergehalt relativ an. In diesen Hungerversuchen wurde die Nahrung vollständig entzogen. Die Analysen wurden durchgeführt am Material von Tieren, die eine bestimmte Anzahl von Tagen gehungert hatten, und die Mittelwerte dieser Gruppen untereinander verglichen. Als normale Ausgangswerte wurden die durchschnittliche Zusammensetzung und das Durchschnittsgewicht gewisser Fettlager benutzt. Bei normal ernährten, gesunden Ratten besitzen die Fettdepots der einzelnen Körperregionen einen gleichmäßigen Gehalt an Wasser, Fett usw., so daß trotz der individuellen Schwankungen die Werte miteinander vergleichbar sind. Im Hunger sind die im Fettgewebe innerhalb einer bestimmten Zeit auftretenden Veränderungen abhängig von der Menge der Fettreserven und von der Dauer des Hungerns. Da nun das Gewicht der Depots auch bei normalen, gesunden Ratten (s. unten) stark wechseln kann, sind die innerhalb der gleichen Hungerzeit bei den einzelnen Tieren auftretenden Gewebsveränderungen oft sehr unterschiedlich und Durchschnittswerte nur bei einem großen Tiermaterial benutzbar. So fanden Wetzel und seine Mitarbeiter nach 5tägigem Hunger im Fettgewebe bei einem Tier (Nr. 63) 24,3% Wasser, 75,2% Fett und 0.5% (?) fettfreie Trockensubstanz, bei einem anderen Tier derselben Serie (Nr. 95) 8,2% Wasser, 73,9% Fett und 17,9% fettfreien Trockenrückstand. Derartige Unterschiede weisen darauf hin, daß für die jeweilige Zusammensetzung des Fettgewebes bei völligem Nahrungsentzug der anfängliche Ernährungszustand und Gehalt an den einzelnen Bestandteilen offenbar von Bedeutung ist. Nach Lauter und Terhedebrügge (4) ist der zeitliche Ablauf und die Dauer für die Intensität der Abnahme der einzelnen Depots nicht gleichgültig. Durch eine protrahierte Nahrungseinschränkung läßt sich nach Wassermann (5) eine besonders starke Entspeicherung erzielen, ein Befund, der von Hausberger (6) bestätigt wurde. In seinen Untersuchungen über das Verhalten des Fettgewebes bei verschiedenen Ernährungszuständen konnte Hausberger gelegentlich beobachten, daß auch die

* Die 1. Zahl gibt hier wie im folgenden den Durchschnittswert an, die in den Klammern stehenden geben den Minimal- bzw. Maximalwert an.

Schnelligkeit der Entspeicherung, die durch die jeweilige Größe und Dauer der Nahrungsbeschränkung innerhalb einer bestimmten Zeit bedingt ist, auf die Zusammensetzung von Einfluß ist. Diese Feststellung habe ich auf seine Anregung hin weiterverfolgt.

Eine Methode, bei der die Tiere nach einer bestimmten Hungerzeit getötet, das Fettgewebe dann analysiert und die erhaltenen Werte mit Normalwerten verglichen werden, ist nur bedingt verwertbar. Aus früheren Untersuchungen von Hausberger und Gujot (7) ist bekannt, daß symmetrische Fettkörper bestimmter Regionen fast gleiches Gewicht und gleiche Zusammensetzung aufweisen. Zur sicheren Bestimmung des jeweiligen Zustandes des Ausgangsmaterials gingen wir nun so vor, daß wir in einem gegebenen Ernährungszustand einen umschriebenen, gut abgrenzbaren Fettkörper exstirpierten und dann die Ernährungsbedingungen änderten. Gewicht und Zusammensetzung dieses Depots wurden festgestellt und mit dem anderen symmetrischen Fettlager verglichen. Nach Versuchen von Hausberger eignet sich dazu vorzüglich der Hodenfettkörper der weißen Ratte.

Methodisches.

Dieser symmetrische Fettkörper erstreckt sich plattenförmig vom Nebenhodenkopf und -körper bauchwärts. Zur Exstirpation dieses Fettlagers wurde nach der Rasur in Äthernarkose seitlich von der Peniswurzel ein etwa 1 cm langer Hautschnitt angelegt und die Muskelschicht samt Peritoneum durchtrennt. Der vorliegende Hoden wurde nun zur Herausnahme am Hoden-Nebenhodenkopfband gefaßt und mit Nebenhoden und Fettdepot extraperitoneal auf ein mit physiologischer Kochsalzlösung befeuchtetes Tuch verlagert. Dann wurden das Huntersche Aufhängeband und nach vorheriger Unterbindung des Samenstranges auch dieser möglichst hoch durchtrennt. Bauchdeckennaht — Hautnaht — primäre Wundheilung. Die Hautfäden wurden nach 3 Tagen gezogen, wenn die Tiere diese nicht schon selbst abgenagt hatten. Nach möglichst vollständigem Ausstreichen des Blutes aus den Gefäßen wurde der Hodenfettkörper unter besonderer Beachtung der in seinem basalen Teil eingelagerten Ductuli efferentes sorgfältig abpräpariert. Dann wurde er auf der analytischen Waage auf 1 mg genau gewogen und in der von Hausberger und Gujot angegebenen Weise weiterverarbeitet. Anschließend änderten wir die Ernährungsbedingungen. Später wurde das Tier in einem bestimmten Ernährungszustand getötet, entblutet, der symmetrische Hodenfettkörper der anderen Seite herauspräpariert, gewogen und wie oben weiter verarbeitet. Die Ergebnisse der einzelnen Versuchsgruppen sind in Tabellen zusammengefaßt und in diesen der gefundene Fett-, Wasser- und fettfreie Trockensubstanzgehalt der besseren Übersicht wegen nur in Prozenten angegeben. Die Mengen in mg lassen sich aus diesen leicht errechnen.

Die Zusammensetzung des Hodenfettkörpers bei normaler Ernährung.

Die beiden analogen Hodenfettkörper einer Ratte weisen ausnahmslos ein fast gleiches Gewicht und gleiche Zusammensetzung auf (s. Tabelle 1). Das durchschnittliche Gewicht eines dieser Depots ist 0,50 % (0,33—0,66 %) des Gesamtkörpergewichtes. Bei Tieren gleicher Ernährung können Unterschiede also bis zu 100 % vorhanden sein. Der Anteil des Fettes ist 86,9 % (81,8—90,4 %). Wie zu erwarten, ist der Wassergehalt bei dem fettreichsten Tier (Nr. 37) am geringsten (7,8 %), bei dem fettärmsten Tier (Nr. 22) ist er am größten (15,4 %). Im Durchschnitt beträgt er 10,8 %. Auch der Gehalt an fettfreier Trockensubstanz zeigt konstante Beziehungen, das fettreichste Gewebe enthält am wenigsten Trockensubstanz (1.8 %). Umgekehrt verhält sich das fettarme Gewebe (3,3 %). Die Unterschiede der beiden symmetrischen Fettlager betragen für Frischgewicht. Fett und Wasser $\pm$ 5 %, für die Trockensubstanz* $\pm$ 15 %. Bei der Trockensubstanz sind die etwas größeren Unterschiede hier wohl durch die sehr geringen Mengen bedingt.

Veränderungen in der Zusammensetzung des Hodenfettkörpers schnell ausgehungerter Tiere (Versuchsgruppe 1; Tabellen 2 und 3).

Auch im Hunger weisen die symmetrischen Depots ein annähernd gleiches Verhalten auf (s. Tabelle 2). Der Unterschied im Frischgewicht ist hier etwas größer. Desgleichen ergibt sich für das Fett eine etwas größere Differenz ($\pm$ 20 %). Für das Wasser und die Trockensubstanz bleiben die Unterschiede jedoch in den oben angegebenen Grenzen. Im Vergleich zu den in den nachfolgenden Untersuchungen gefundenen Werten sind aber alle Abweichungen so gering, daß sie praktisch vernachlässigt werden können.

Einer Anzahl normal ernährter Ratten wurde der linke Hodenfettkörper entfernt. Dann wurden die Tiere in Einzelkäfige gesetzt und ihnen jegliche Nahrung entzogen. Sie erhielten lediglich täglich frisches Wasser. Möglichst stark ausgehungert, wurden sie später getötet und das Fettlager der rechten Seite auf seine Zusammensetzung untersucht. Der Zustand, in dem die Ratten getötet wurden, war fast immer ein präagonaler. Die Tiere hatten Untertemperatur, meist heftiges Muskelzittern und nahmen kein Futter mehr an. Das spontane Ende wäre wahrscheinlich in etwa 4—6 Stunden erfolgt. In diesem hochgradig ausgehungerten Zustand war die Gewichtsabnahme durchschnittlich 35 %. Das Maximum derselben betrug 41 % (Nr. 26), das Minimum 29 % (Nr. 24). Bei der Ratte Nr. 26 war sowohl das absolute Gewicht des normalen Fettkörpers besonders groß (1689 mg), wie auch der Körperbezugswert (d. i. Fettkörpergewicht: Körpergewicht). Das Fettdepot wog 0,62 % des Körpergewichtes. Bei dem

* Hier wie im folgenden ist unter Trockensubstanz immer der fettfreie Trockenrückstand zu verstehen.

Tabelle 1. Gewichte und Zusammensetzung normaler Hodenfettkörper von Ratten. G = Körpergewicht; $H_{1\text{ u. }2}$ = Gewicht des linken bzw. rechten Hodenfettkörpers (die beigefügten Zahlen 1 und 2 beziehen sich immer auf den linken bzw. rechten Hodenfettkörper); F = Fettgehalt; T = fettfreie Trockensubstanz; W = Wassergehalt (alle Werte sind auf das Frischgewicht der Fettdepots bezogen); U = Unterschied zwischen H_1 und H_2, F_1 und F_2 usw.

Nr.	G. g	H. 1 mg	In % d. G.	H. 2 mg	In % d. G.	U. %	F. 1 %	F. 2 %	U. %	T. 1 %	T. 2 %	U. %	W. 1 %	W. 2 %	U. %
1	269	1487	0,55	1474	0,55	± 0,9	88,5	87,7	± 0,9	2,0	2,3	± 15	9,5	10,0	± 5,3
2	236	1036	0,44	1031	0,44	± 0,5	82,5	83,1	± 0,7	3,1	2,8	± 9,7	14,4	14,1	± 2,1
3	256	1304	0,51	1284	0,50	± 1,5	88,9	89,1	± 0,2	2,0	2,0	± 0	9,1	8,9	± 2,2

Tabelle 2. Gewichte und Zusammensetzung der Fettkörper von schnell ausgehungerten Kontrolltieren. A = Körpergewicht zu Anfang, E = zu Ende des Versuchs; GA = Gewichtsabnahme während des Versuchs; sonst wie Tabelle 1.

Nr.	A. g	E. g	G. A. %	H. 1 mg	In % d. G.	H. 2 mg	In % d. G.	U. %	F. 1 %	F. 2 %	U. %	T. 1 %	T. 2 %	U. %	W. 1 %	W. 2 %	U. %
4	217	150	31	54	0,04	50	0,03	± 7,4	4,4	4,6	± 4,5	18,9	20,0	± 5,8	76,7	75,4	± 1,7
5	302	210	30	115	0,05	96	0,05	± 16,5	3,5	3,1	± 11,7	18,2	17,7	± 2,7	78,3	79,2	± 1,1
6	247	163	34	81	0,05	65	0,04	± 19,8	3,7	4,3	± 16,6	17,9	19,8	± 10,6	78,4	75,8	± 3,3

Tabelle 3. Gewichte und Zusammensetzung der Hodenfettkörper schnell ausgehungerter Versuchstiere (Gruppe 1). H_1 = vor dem Hunger operativ entfernter linker Hodenfettkörper; H_2 = Hodenfettkörper der ausgehungerten Tiere; U_r = relative Zu- oder Abnahme der Bestandteile, bezogen auf den gefundenen Gehalt in der Gewichtseinheit Fettgewebe; U_a = absolute, mengenmäßige Zu- oder Abnahme (als Wert 100 wurde der vor dem Hungern festgestellte Gehalt der einzelnen Substanzen angenommen); D = Durchschnittswerte der ganzen Tierserie; sonst wie vorhergehende Tabellen.

Nr.	A. g	E. g	G. A. %	H. 1 mg	In % d. G.	H. 2 mg	In % d. G.	U. %	F. 1 %	F. 2 %	U. r. %	U. a. %	T. 1 %	T. 2 %	U. r. %	U. a. %	W. 1 %	W. 2 %	U. r. %	U. a. %
21	248	167	33	1490	0,60	123	0,07	— 92	83,8	3,5	— 96	— 99,7	3,6	17,7	+ 392	— 56	12,6	78,8	+ 525	— 50
22	182	126	31	719	0,40	91	0,07	— 87	81,8	4,2	— 95	— 99,4	2,8	14,8	+ 429	— 33	15,4	81,0	+ 426	— 34
23	173	119	31	979	0,57	98	0,08	— 90	84,9	5,5	— 94	— 99,4	3,3	14,9	+ 352	— 55	11,8	79,6	+ 575	— 32
24	200	142	29	659	0,33	64	0,05	— 90	86,3	5,5	— 94	— 99,4	2,4	18,9	+ 687	— 23	11,2	75,6	+ 575	— 35
25	254	154	39	1373	0,55	102	0,07	— 93	88,9	3,0	— 97	— 99,8	2,0	17,3	+ 765	— 35	9,1	79,7	+ 776	— 35
26	277	164	41	1689	0,62	82	0,05	— 95	90,2	3,9	— 96	— 99,8	1,8	17,8	+ 889	— 53	8,0	78,3	+ 879	— 52
27	288	179	38	1530	0,54	105	0,06	— 93	88,6	3,4	— 96	— 99,7	2,0	14,9	+ 645	— 49	9,4	81,7	+ 769	— 40
28	258	162	37	1429	0,56	99	0,06	— 93	86,1	3,3	— 96	— 99,8	2,4	18,2	+ 658	— 47	11,5	78,5	+ 583	— 53
D.	235	152	35	1234	0,53	96	0,06	— 92	86,3	4,0	— 96	— 99,6	2,5	16,8	+ 602	— 44	11,1	79,2	+ 639	— 41

Tier Nr. 24 betrug das absolute Gewicht des Hodenfettkörpers 659 mg, der Körperbezugswert war nur 0,33 %. Dementsprechend war auch bei dem fetten Tier die Hungerzeit 12 Tage, bei dem mageren nur 4 Tage. Der durchschnittliche Gehalt an Wasser-, Fett- und fettfreier Tockensubstanz der normalen Hodenfettkörper dieser Versuchstiere bewegte sich innerhalb der oben angegebenen Grenzen. Im ausgehungerten Zustand hatte das Frischgewicht des Hodendepots bedeutend mehr abgenommen als der Gesamtkörper, so daß der Körperbezugswert nur mehr 0,06 % (0.05—0,08 %) betrug. Die absolute Verminderung des Hodenfettkörpers war im Durchschnitt 92 % (87—95 %), während das Körpergewicht nur um 35 % (29 bis 41 %) reduziert wurde. Die Zusammensetzung dieser entspeicherten Depots war ähnlich wie die der normalen eine recht gleichmäßige. Der Fettanteil belief sich auf 4 % (3,0—5,5 %), der des Wassers auf 79,2 % (75,6—81,7 %), der der fettfreien Trockensubstanz auf 16,8 % (14,8—18,9 %). Die Schwankungen waren am größten beim Fettgehalt, wohl dadurch, daß die letzten Reserven bei den einzelnen Tieren noch nicht ganz gleich weit aufgebraucht worden waren. Mengenmäßig dagegen wurden alle Bestandteile vermindert. Das Fett war um 99,6 % (99,4—99,8 %) verringert, d. h. es wurde nur mehr $^1/_{500}$ des im normalen Depot vorhandenen Fettes nicht mobilisiert. Der Wassergehalt zeigte eine relative Zunahme um 639 % (426—879 %), dagegen eine absolute Abnahme um 41 % (32—53 %). Ähnlich war auch das Verhalten der Trockensubstanz. Die relative Zunahme betrug 602 % (352—889 %), die mengenmäßige Abnahme dagegen 44 % (23—56 %). Diese Veränderungen in der Zusammensetzung des Gewebes kommen besonders in Abb. 1 zum Ausdruck.

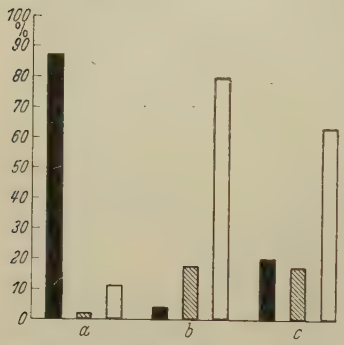


Abb. 1. Zusammensetzung des Hodenfettkörpergewebes; *a*: normal ernährter; *b*: schnell ausgehungerter; *c*: langsam ausgehungerter Tiere. Fett = ■; fettfreie Trockensubstanz = ▨; Wasser = □.

Veränderungen in der Zusammensetzung des Hodenfettkörpers langsam ausgehungerter Tiere (Versuchsgruppe 2; Tabelle 4).

Andere Tiere wurden nach der Operation in Einzelkäfigen nach eintägigem Hunger mit einer täglich abgewogenen Menge gleichbleibenden Futters, das aus getrockneter Leber, Krabben, Hundekuchen und Haferflocken bestand, ernährt. Ferner erhielten sie täglich frisches Wasser und etwas Grünfutter. Die Futtermenge betrug im Durchschnitt 4 % (3—5 %) des jeweiligen Körpergewichtes. Bei dieser Ernährung nahmen die Tiere langsam an Gewicht ab. Durch tägliches Wiegen der Ratten und entsprechende Zuteilung des Futters wurde eine weitgehend konstante Gewichtsabnahme erreicht. Sie betrug durchschnittlich 2 % des Körper-

gewichtes. Bei einer Gewichtsverminderung von 40 % (38—45 %) wurden die Tiere dann getötet und der Hodenfettkörper der anderen Seite auf seine Zusammensetzung geprüft. Diese Ratten waren, wie das Endgewicht zeigt, im ganzen stärker abgemagert als die der vorigen Gruppe (35 %), doch wiesen sie noch keinerlei Anzeichen einer beginnenden Agonie auf. Bei gleichbleibenden Bedingungen hätte sich bis zu ihrem Verenden eine wesentlich größere Gewichtsabnahme erreichen lassen. Sie wurden jedoch bereits in dem oben erwähnten Zustand getötet, um sie mit den schnell ausgehungerten Tieren vergleichen zu können. Bei den Ratten dieser Serie betrug der Körperbezugswert des Hodenfettkörpers 0,04 % (0,03—0,06 %) gegenüber 0,06 % (0,05—0,08 %) bei den schnell verhungerten Tieren. Während der protrahierten Inanition hatte sich also das Fettdepot noch um ein Drittel mehr verringert als beim schnellen Verhungern. Tabelle 4 zeigt, daß der Fettgehalt des Hodenfettkörpers der langsam ausgehungerten Tiere, obwohl diese stärker an Gewicht abgenommen und ihre Fettdepots im ganzen mehr eingeschmolzen hatten, noch relativ groß war. Er betrug 20,2 % (10,6—39,7 %) gegenüber 4 % (3.0—5,5 %) bei den schnell verhungerten Tieren. Dies bedeutet eine Fettabnahme von nur 77 % (54—88 %) gegenüber 96 % (94—97 %) bei den Ratten der vorigen Gruppe. Mengenmäßig ergab sich eine Verminderung um 98.8 % (98,0—99,5 %) gegenüber 99,6 % (99,4—99,8 %). Der kleinere Hodenfettkörper der langsam verhungerten Tiere enthielt also noch die dreifache Menge Fett wie derjenige der schnell verhungerten. An Trockensubstanz fand sich 16,8 % (12,9—20,5 %). Die relative Zunahme betrug 722 % (545—863 %). Während der prozentuale Anteil an Trockensubstanz gleich war, war die mengenmäßige Abnahme hier größer. Dieselbe betrug 60 % (50—72 %) gegenüber 44 % (23—56 %) beim schnellen Verhungern. Der Wassergehalt des Gewebes belief sich auf 63 % (39,8—71,1 %) gegenüber 79,2 % (75,6—81,7 %). Dies bedeutet eine relative Vermehrung um 520 % (255—699 %), die jedoch hinter derjenigen der Versuchsgruppe 1 mit 639 % (426—879 %) zurückblieb. Für das Wasser ergab sich mengenmäßig ebenfalls eine Abnahme um 78 % (45—85 %), während dieselbe beim schnellen Verhungern nur 41 % (32—53 %) ausmachte. Am besten kommen diese Unterschiede zum Ausdruck, wenn man die Tiere Nr. 25 und Nr. 34 sowie Nr. 27 und Nr. 33 miteinander vergleicht. Diese Ratten befanden sich bei Versuchsbeginn in gleichem Ernährungszustand (vgl. die Körperbezugswerte) und wurden bei der gleichen Gewichtsabnahme getötet. Das langsam ausgehungerte Tier schmolz seine Fettdepots im ganzen gewichtsmäßig stärker ein. Der Hodenfettkörper des Tieres Nr. 34 wog trotz gleichen Anfangsgewichtes nur 76 mg gegenüber 102 mg bei der schnell verhungerten Ratte Nr. 25. Trotzdem wies das Depotgewebe mit 21,1 % einen wesentlich höheren prozentualen Fettgehalt auf als jenes, das nur 3,0 % Fett enthielt. Bei dem anderen Vergleichspaar waren die entsprechenden Werte ähnlich: 16,9 % gegenüber

Tabelle 4. Gewichte und Zusammensetzung von Hodenfettkörpern langsam ausgehungerter Versuchstiere (Gruppe 2). Bezeichnungen wie Tabelle 3.

Nr.	A. g	E. g	G. A. %	H. 1 mg	In % d. G.	H 2 mg	In % d. G.	U. %	F. 1 %	F. 2 %	U. r. %	U. a. %	T. 1 %	T. 2 %	U. r. %	U. a. %	W. 1 %	W. 2 %	U. r. %	U. a. %
31	283	162	43	1492	0,53	54	0,03	— 96	83,7	11,1	— 87	— 99,5	2,3	18,2	+ 691	— 72	14,0	70,7	+ 405	— 82
32	350	206	41	1646	0,47	80	0,04	— 95	88,5	10,6	— 88	— 99,4	1,9	18,3	+ 863	— 54	9,6	71,1	+ 641	— 64
33	282	172	39	1448	0,51	52	0,03	— 96	87,1	16,9	— 81	— 99,3	2,1	19,6	+ 833	— 66	10,8	63,5	+ 488	— 79
34	255	155	39	1370	0,54	76	0,05	— 94	87,1	21,1	— 76	— 98,7	2,0	12,9	+ 545	— 64	10,9	66,0	+ 506	— 66
35	275	170	38	1803	0,66	110	0,06	— 94	88,0	26.2	— 70	— 98,2	2,0	13,8	+ 590	— 57	10,0	60,0	+ 500	— 64
36	328	203	38	1747	0,53	93	0,05	— 95	88,9	11,8	— 87	99,3	1,9	17,7	+ 832	— 50	9,2	70,2	+ 666	— 59
37	274	171	38	1490	0,54	102	0,06	— 93	90,4	24,6	— 73	— 98,1	1.8	13,1	+ 628	— 51	7,8	62,3	+ 699	— 45
38	313	173	45	1345	0,43	58	0,03	— 96	86,5	39,7	— 54	— 98,0	2,3	20,5	+ 791	— 62	11,2	39,8	+ 255	— 85
D.	295	177	40	1543	0,53	78	0,04	— 94,5	87,5	20,2	— 77	— 98,8	2,0	16,8	+ 722	— 60	10,4	63,0	+ 520	— 78

Tabelle 5. Gewichte und Zusammensetzung des Hodenfettkörpers nach schnellem Hunger (= H_1) und des symmetrischen Hodenfettkörpers der gleichen Tiere, nachdem sie 3 Wochen auf dem Operationsgewicht gehalten worden waren (= H_2) (Gruppe 3). *O* = Operationsgewicht; sonst wie vorhergehende Tabellen.

Nr.	A. g	O. g	E. g	G. A. %	H. 1 mg	In % d. G.	H. 2 mg	In % d. G.	U. %	F. 1 %	F. 2 %	U. r. %	U. a. %	T. 1 %	T. 2 %	U. r. %	U. a. %	W. 1 %	W. 2 %	U. r. %	U. a. %
41	273	209	208	23	220	0,11	341	0,16	+ 55	38,5	68,5	+ 78	+ 176	11,6	5,9	— 49	— 22	49,9	25,6	— 49	— 20
42	250	181	180	28	83	0,05	135	0,08	+ 63	11,1	56,3	+ 407	+ 726	16,9	7,2	— 57	31	72,0	36,5	— 49	— 18
43	220	162	161	26	80	0,05	177	0,11	+ 121	5,0	59,4	+ 1088	+ 2527	17,1	7,1	60	— 11	77,3	33,5	— 57	— 4
44	232	170	170	27	58	0,03	151	0,09	+ 160	5,9	63,9	+ 983	+ 2739	10,5	6,5	— 39	+ 61	83,6	29.6	— 65	8
45	235	177	181	25	123	0,07	253	0,14	+ 106	4,4	59,4	+ 1250	+ 2683	17,3	5,9	— 66	— 30	78.3	34,7	— 54	— 9
46	339	249	249	27	179	0,07	242	0,10	+ 35	26,3	59,8	+ 127	+ 207	14,1	6,9	— 51	— 34	59,6	33.3	— 44	— 24
47	200	142	141	29	77	0,05	171	0,12	+ 122	4,2	56,3	+ 1240	+ 2906	18,1	8,0	— 56	— 2	77,7	35,7	— 54	+ 2
48	201	156	156	23	123	0,08	260	0,17	+ 111	40,4	76,3	+ 89	+ 299	13,8	4,7	— 66	— 28	45,8	19,0	— 59	— 12
D.	244	181	181	26	117	0,06	216	0,12	+ 108	17,0	62,5	+ 658	+ 1483	14,9	6,5	— 48	— 23	68,0	30,9	— 54	— 12
49	272	210	207	23	266	0,13	202	0,10	— 24	32,7	44,1	+ 35	+ 2	11,4	9,9	— 13	— 34	55,9	46,0	— 18	— 37
50	225	172	170	24	424	0,25	256	0,15	— 40	44,2	50,3	+ 14	— 31	9,1	8,6	— 5	— 43	46,7	41,1	— 12	— 47

3,4 %. Für die Trockensubstanz waren die Unterschiede folgende: 12,9 % gegenüber 17,3 % bzw. 19,6 % gegenüber 14,9 %. Der prozentuale Wassergehalt war bei den langsam ausgehungerten Tieren geringer: 66,0 % gegenüber 79,7 % bzw. 63,5 % gegenüber 81,7 %. In Abb. 1 sind die Zusammensetzung des Fettgewebes beim langsamen Hungern und zugleich die Veränderung gegenüber dem absoluten Nahrungsentzug graphisch dargestellt. Die verschiedene Zusammensetzung kommt hier deutlich zum Ausdruck, jedoch geht aus der Abbildung das besprochene Verhalten des Frischgewichtes nicht hervor.

Veränderungen in der Zusammensetzung des Hodenfettkörpers bei längerer Unterernährung (Versuchsgruppe 3; Tabelle 5).

Wieder anderen Tieren, die normal ernährt waren, wurde in Einzelkäfigen bei genügendem Angebot frischen Wassers jede Nahrung entzogen, bis sie hochgradig entkräftet waren, das angebotene Futter jedoch noch gierig annahmen. In diesem Zustand wurden sie operiert. Bei diesen Ratten betrug die Gewichtsabnahme 26 % (23—29 %). Nach der Operation erhielten sie dasselbe Futter wie die Tiere der vorigen Gruppe und wurden

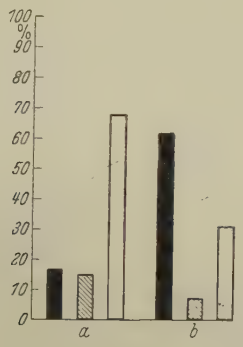


Abb. 2. Zusammensetzung des linken Hodenfettkörpers von Ratten, die schnell ausgehungert worden waren (= *a*) und des rechten Hodenfettkörpers (= *b*) der gleichen Tiere, nachdem sie 3 Wochen auf dem Operationsgewicht gehalten worden waren. Fett: = ■ fettfreie Trockensubstanz: = ▨ Wasser: = □.

3 Wochen hindurch auf dem Operationsgewicht gehalten, indem sie täglich eine abgewogene Futtermenge, die durchschnittlich 5 % des jeweiligen Körpergewichtes betrug, erhielten. Durch tägliche Gewichtskontrolle der Ratten konnten größere Gewichtsschwankungen ausgeschlossen werden. Nach 3 Wochen wurden die Tiere dann getötet und der symmetrische Hodenfettkörper untersucht. 8 Tiere zeigten hierbei zunächst eine absolute Zunahme des Frischgewichtes des Hodenfettkörpers und zwar um 108 % (35—160 %), d. h. trotz gleichbleibenden Körpergewichtes hatten sich die Frischgewichte der Fettdepots im Durchschnitt verdoppelt. Bei 2 Tieren (Nr. 49 und 50) wurde dagegen eine Abnahme des Frischgewichtes beobachtet. Eine Erklärung hierfür ließ sich nicht finden. Was jedoch die Zusammensetzung der Depots betrifft, so ergaben sich bei allen Tieren die gleichen Veränderungen. Der Fettgehalt stieg an, und zwar um so stärker,

je mehr die Tiere bei der Operation ausgehungert waren. Es ergab sich hier eine prozentuale Steigerung von 78—1250%. Die entsprechenden mengenmäßigen Werte stiegen sogar bis annähernd auf das Dreißigfache. Bei den beiden schon erwähnten Ratten zeigte sich nur eine geringe prozentuale Steigerung des Fettgehalts, während die absolute Fettmenge in dem einen Falle (Tier Nr. 49) gleichblieb, in dem anderen (Tier Nr. 50) sogar um 31% abnahm. Für die Trockensubstanz war die durchschnittliche relative Abnahme 48% (39—66%). Mengenmäßig betrug dieselbe 23% (2—31%). Nur bei dem Tier Nr. 44 fand sich eine Steigerung um 61%. Wie die Trockensubstanz, so nahm auch der Wassergehalt sowohl relativ als auch absolut ab. Die entsprechenden Werte waren 54% (44—65%) bzw. 12% (8—24%). Die Veränderungen in der Zusammensetzung des Fettdepots bei dieser Versuchsgruppe sind in der Abb. 2 graphisch dargestellt.

Besprechung der Ergebnisse.

Gegenüber der von Bozenraad und Schirmer beim Menschen gefundenen Zusammensetzung des Fettgewebes mit einem Wassergehalt von 7—46% bzw. 5—71% müssen die in vorliegendem Material gefundenen Schwankungen als gering bezeichnet werden. Das Material dieser beiden Untersucher stammt von teilweise pathologischen Fällen mit Ödemen, und die großen Differenzen können wohl darin ihre Ursache haben. Klinische Beobachtungen zeigen, daß im Fettgewebe wie kaum in einem anderen Gewebe Wasserretentionen größten Ausmaßes stattfinden können. Von Wassermann, der beim Einbringen von Fettgewebe in hypotonische Lösungen in kürzester Zeit eine sehr große Aufnahme von Wasser zwischen Plasmahülle und Fetttropfen beobachten konnte, wurde neuerdings auf die Fähigkeit der Depots als Wasserspeicher von histologischer Seite hingewiesen.

Auch im Fettgewebe normal ernährter Ratten kann der Wassergehalt individuelle Schwankungen bis zu 100% aufweisen, während das Fett nur um 10%, die Trockensubstanz um 95% variiert. Bedeutend größere Unterschiede fanden Wetzel und Mitarbeiter in der Zusammensetzung des Fettgewebes (Hoden- und Nierenfettgewebe) von Ratten. Die Menge des Fettes schwankte um 20%, die der fettfreien Trockensubstanz bis zu 700%, die des Wassers um 105%. Die verschiedenen Trockensubstanzwerte und ihre Bezugswerte zum Gewebswasser können durch Präparationsfehler bedingt sein. So ist — um ein Beispiel zu nennen — für ein Tier Nr. 10 das Fett mit 74,1% angegeben, die Trockensubstanz mit 20,5% und das Wasser mit nur 5,4%. Ähnlich sind die Werte für die Tiere Nr. 17, 24 und 76. Der durchschnittliche Trockensubstanzgehalt war 11,1%, der Wassergehalt 7,1%. Wir fanden jedoch stets 4—5mal soviel Wasser wie Trockensubstanz und immer das fettreichste Gewebe am ärmsten an Trockensubstanz und Wasser. Möglicherweise sind diese Unterschiede durch die verschiedene Methodik der Wasserbestimmung verursacht. Die Heidelberger Untersucher trockneten das Fettgewebe bei 60° im Vakuumtrockenschrank und

bestimmten gesondert die Fettmenge. Aus dem Frischgewicht — (Gewichtsverlust beim Trocknen + Fett) wurde der Trockensubstanzgehalt errechnet. Bei unserer Methodik wurde das Fett durch Aceton-Ätherextraktion gewonnen, Lösungsmittel und Wasser bei 100° verjagt und dann gewogen. Der Rückstand wurde bis zur Gewichtskonstanz im Exsikkator getrocknet, gewogen und der Rest der zum Frischgewicht fehlenden Summe als Wasser angegeben. Das Gewebswasser ist im Fettgewebe in den engen Kapillarräumen zwischen den Fettzellen fixiert. Wahrscheinlich wurde bei der Behandlung im Vakuumtrockenschrank nur ein Teil des Wassers entzogen. Nur so können diese Trockensubstanz- und Wasserwerte erklärt werden. Auch die Veränderungen der Depots akut hungernder Tiere waren bei unserem Material ziemlich einheitlich. Der Gehalt an Fett zeigte eine Schwankungsbreite von etwa 50 %, der an Wasser eine solche von etwa 8 % und der an Trockensubstanz eine solche von etwa 25 %. Bei dem von den obigen Untersuchern analysierten Fettgewebe waren die Werte dagegen sehr uneinheitlich. So zeigten nach 7tägigem Hunger die Wassermenge bei den verschiedenen Tieren Schwankungen bis zu 500 %, die Trockensubstanz variierte bis zu 400 %. In der Zusammensetzung des Gewebes fanden sich Unterschiede, wie wir sie bei unseren Tieren niemals beobachten konnten. Bei einem durchschnittlichen Gehalt von 81,8 % Fett waren 7,1 % Wasser und der Rest von 11,1 % fettfreie Trockensubstanz. Auch diese Werte dürften durch die Methodik bedingt sein. Angaben wie über die Zusammensetzung des Depots des Tieres Nr. 63 (75,2 % Fett, 24,3 % Wasser, 0,5 % fettfreie Trockensubstanz) beruhen möglicherweise auf Präparationsfehlern.

Von besonderem Interesse für den Hungerstoffwechsel überhaupt und besonders für den des Fettgewebes sind die beobachteten Veränderungen bei länger dauerndem Hunger. Bei akuter Nahrungsentziehung — die in unseren Versuchen bis zum präagonalen Stadium führte — wurde das Fettgewebe weitaus am stärksten eingeschmolzen. Nur mehr etwa 8 % der ursprünglichen Menge wurden wiedergefunden. Die bei weitem größte Verminderung hatte das Depotfett erfahren. Seine Mobilisierung gelang offenbar am leichtesten. Interessanterweise waren nun bei den Tieren, die langsam ausgehungert wurden, das Frischgewicht der Depots noch stärker herabgesetzt, der Fettgehalt aber bedeutend größer. Auch die absolute Menge der Trockensubstanz war stärker reduziert worden. Während der längeren Hungerzeit wurde der Stoffwechsel zu einem Teil aus den Eiweißreserven bestritten und das Depotfett weniger mobilisiert. Je nach der Dauer des Hungerns wurden also — bei gleichem absolutem Gewichtsverlust — die einzelnen disponiblen Vorräte in einem ganz verschiedenen Maße angegriffen. Wäre jedoch die Nahrungsmittelverminderung der langsam ausgehungerten Tiere noch weiter fortgesetzt worden, so wäre es bei ihnen — wie schon erwähnt — zu einer stärkeren Reduktion sowohl der Fettlager als auch des Depotfettes gekommen, als bei der akut hungernden Tiergruppe.

Aus den Ergebnissen der 3. Versuchsserie geht hervor, daß ein Umbau im Fettgewebe auch erfolgt, wenn der Organismus nach einer Zeit akuten

Hungerns auf dem gleichen Gewicht gehalten wird. Sind die Depots infolge der schnellen Fettabwanderung sehr verkleinert, so nehmen diese wieder an Gewicht zu (etwa 108 %), vor allem durch eine vermehrte Fettablagerung. Diese war am ausgesprochensten bei jenen Tieren, die zur Zeit der Operation am stärksten abgemagert waren. Sie betrug z. B. bei den Tieren Nr. 43, 44, 45 und 47 das 10—12fache, bei den vorher weniger entspeicherten Fettkörpern der Ratten Nr. 41 und 46 nur etwa das Doppelte und bei einigen anderen (Nr. 49 und 50) noch weniger. Der Organismus sucht sich also auf alle Fälle eine gewisse Menge Depotfett zu erhalten und er vergrößert, wenn möglich, seine im akuten Hunger verringerten Reserven bei Zufuhr kleiner Nahrungsmengen. Diese Nahrung war allerdings so bemessen, daß zwar das Körpergewicht gleich blieb, aber zugleich das reichlich vorhandene Gewebswasser durch aufgenommenes oder gebildetes Fett ersetzt werden konnte; die Stoffwechselbilanz war also positiv. Im akuten Hunger sind die Tiere fettärmer und wasserreicher als im protrahierten. Das Gewicht allein gibt über diese wichtige Tatsache keine Auskunft. Auch die Trockensubstanz erfährt eine Verringerung. Da diese annähernd konstante Beziehungen zur Plasmamenge zeigt, kann auch aus ihrem Verhalten auf eine Verminderung des Zelleiweißes geschlossen werden (ebenso wie aus histologischen Beobachtungen). Keineswegs aber erfolgte innerhalb unserer Beobachtungszeit ein Umbau, der so weit ging, daß ein in seiner Zusammensetzung normales Gewebe entstanden wäre. Die relativ stark vermehrte Menge des Plasmas deutet darauf hin, daß in den Depots eine starke Aufnahmebereitschaft für angebotene Speichersubstanzen herrscht.

Zusammenfassung.

Die beiden Hodenfettkörper von Ratten besitzen annähernd gleiches Gewicht und gleiche Zusammensetzung. Bei 26 Tieren wurde der eine Fettkörper operativ entfernt, die Ernährungsbedingungen geändert und dann die Veränderungen in der Zusammensetzung untersucht.

Der Hodenfettkörper erwachsener Ratten wiegt etwa 0,33—0,66 % des Körpergewichtes. Seine relative Größe schwankt bei Tieren mit gleicher Ernährung um 100 %. Der Gehalt an Fett beträgt im Durchschnitt 86 %, an Wasser 12 %, an fettfreier Trockensubstanz 2,3 %. Das Verhältnis Wasser : Trockensubstanz ist etwa 4 : 1. Fettreiches Gewebe ist arm an Wasser und Trockensubstanz und umgekehrt.

Einer Tiergruppe wurde die Nahrung vollständig entzogen und die Tiere in einem höchstgradig ausgehungerten Zustand getötet. Die fettesten Tiere vermochten am längsten zu hungern, bei ihnen ist sowohl die Abnahme des Körpergewichtes als die des Fettgewebes am größten. Die Reduktion des Hodenfettkörpers kann bis 95 % des Ausgangsgewichtes betragen. Am meisten wird das Fett abgebaut (99,6 %) Im stärksten Hunger findet sich nunmehr 0,5—0,2 % der ursprünglich vorhandenen Menge. Auch das Gewebswasser und die Trockensubstanz erfahren eine absolute Verminderung, die 25—55 % betragen kann. Das Verhältnis Trockensubstanz : Was-

ser bleibt dabei fast gleich. Da die Fettabnahme eine sehr viel größere ist als die der beiden anderen Substanzen, nehmen diese relativ sehr stark (etwa 400—900 %) zu, das Gewebe wird trotz der absoluten Abnahme relativ reicher an Wasser und Trockensubstanz.

Läßt man die Tiere langsam protrahiert abmagern bis zu einem ähnlichen Gewichtsverlust wie die vollständig hungernden Ratten, so findet man zunächst, daß — im Gegensatz zur anderen Gruppe — keinerlei agonale Anzeichen auftreten. Es könnte bei protrahierter Inanition eine bedeutend stärkere Gewichtsabnahme und Einschmelzung der Depots erzielt werden als bei akutem Hunger. Bei der gleichen Verminderung des Körpergewichtes ist das Fettgewebe stärker verringert worden (um etwa 30 %). Der Fettgehalt dieser Depots dagegen ist jedoch größer, er beträgt etwa 20 % gegenüber der anderen Gruppe mit etwa 4 %. Wasser und Trockensubstanz sind mengenmäßig ebenfalls vermindert worden, die Trockensubstanz ähnlich wie bei der vorigen Gruppe, das Wasser etwas mehr; relativ ist das Gewebe wegen der stärkeren Fetteinschmelzung wieder wasser- und trockensubstanzreicher geworden.

Bei einer letzten Versuchsgruppe wurden die Tiere nach einer kurzen Periode vollständigen Nahrungsentzuges auf einem bestimmten Gewicht gehalten und untersucht, wie Gewicht und Zusammensetzung des Fettgewebes sich weiter verändern. Mit der Verabreichung von Futter wurde begonnen, nachdem das Körpergewicht um etwa 26 % vermindert war. Der Hodenfettkörper wog zu dieser Zeit 0,06 % des Körpergewichtes, enthielt 17,0 % Fett, 15 % Trockensubstanz und 68 % Wasser. Nach weiteren 3 Wochen war sein Gewicht 0,12 des Körpergewichtes, die durchschnittliche Zunahme betrug 108 %. Sie war am größten bei den Tieren, die vorher am stärksten abgemagert waren. In der Zusammensetzung des Gewebes traten bestimmte Veränderungen auf. Der Fettgehalt nahm sehr zu, am meisten bei den am stärksten ausgehungerten Ratten. Die absolute Vermehrung betrug bis 2900 % (im Mittel 1483 %). Da aber auch das Frischgewicht angestiegen war, ergab sich daraus eine entsprechend geringere relative Zunahme (durchschnittlich 658 %). Wasser und Trockensubstanz hatten absolut und relativ abgenommen. Das Verhältnis Trockensubstanz : Wasser war annähernd gleich geblieben. Bei 2 Tieren waren die Veränderungen in der Zusammensetzung etwas abweichend.

Literatur.

1) Bozenraad: Dtsch. Arch. Klin. Med. **103**, 120 (1911). — 2) Schirmer: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **89**, 263 (1921). — 3) Wetzel, Wollschitt, Ruska u. Oestreicher: Ebenda **179**, 86 (1935); **181**, 703 (1936). — 4) Lauter u. Terhedebrügge: Dtsch. Arch. Klin. Med. **181**, 193 (1937). — 5) Wassermann: Verh. Anat. Ges., 38. Vers., Erg.-Bd. zum Anat. Anzeiger **67**, 181 (1929). — 6) Hausberger: Arch. exper. Zellforsch. **20**, 336 (1937); Z. mikrosk.-anat. Forsch. **36**, 231 (1934). — 7) Hausberger u. Gujot: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **187**, 646 (1937).

Aus dem Pharmakognostischen Institut der Technischen Hochschule Braunschweig.
(Direktor: Prof. Dr. R. Jaretzky.)

Über die diuretische Wirkung des ätherischen Öles der Radix Ononidis bei Ratten.

Von

Robert Jaretzky und Fritz Neuwald.

(Eingegangen am 24. April 1939.)

Im Gegensatz zu Vollmer und Hübner (1) hatten wir (2) bei Untersuchungen mit Ratten festgestellt, daß Ononisdekokte statt der zu erwartenden diuresefördernden eine schwache diuresehemmende Wirkung besitzen und daß eine schwache Diuresesteigerung nur durch ein Ononisinfus, eine starke Diureseförderung durch ein Ononisdestillat zu erzielen sei. Wir haben bei Mitteilung dieser Ergebnisse wohl auf die gegensätzlichen Befunde Vollmers hingewiesen, nicht aber die Widersprüche diskutiert, weil uns ein Vergleich der mit verschiedenen Methoden erhaltenen Ergebnisse nicht zweckmäßig erschien. Vollmer und Giebel (3) machen uns hieraus einen Vorwurf. Da die Autoren gleichzeitig die Richtigkeit unserer früher mitgeteilten Ergebnisse bezweifeln und die wirksamen Ononisanteile auf Grund neuerer Untersuchungen nach wie vor für nichtflüchtig halten, wollen wir ganz kurz die Arbeiten Vollmers kritisieren und anschließend unsere neuesten Ergebnisse besprechen, die eindeutig beweisen, daß das wirksame Prinzip der Hauhechelwurzel eine mit Wasserdämpfen flüchtige Substanz ist und in einem ätherischen Öl vorliegt.

Zunächst sei kurz auf die wesentlichsten Unterschiede in der Versuchsanordnung bei Vollmer und uns eingegangen. 1. Vollmer verwandte Ratten mit einem Gewicht von unter 120 g bis über 200 g, wir gebrauchten dagegen nur Tiere bis zum Höchstgewicht von 150 g. Wir haben wiederholt festgestellt, daß schwerere und ältere Tiere für Diureseversuche nicht geeignet sind. Die besten Ergebnisse erzielt man mit jungfräulichen Tieren von 100—120 g. 2. Vollmer gab jeder Ratte ohne Rücksicht auf das Tiergewicht 5 ccm Wasser bzw. Ononisdekokt, wir dagegen jedem Tier eine dem Tiergewicht entsprechende Flüssigkeitsmenge, und zwar 5 ccm je 100 g Tiergewicht. 3. Vollmer berücksichtigte lediglich die Harnausscheidung nach 4 Stunden, wir dagegen achteten insbesondere auf die Diuresebeschleunigung innerhalb der ersten Stunde. 4. Vollmer benutzte eine bedeutend geringere, unseres Erachtens unzureichende Zahl von Versuchstieren.

Es ist von vornherein kaum anzunehmen, daß beide Methoden zu den gleichen Ergebnissen führen. Welche Methode liefert uns aber die richtigen

Resultate? Zweifellos diejenige, mit der bei wiederholter Versuchsanstellung immer wieder die gleichen oder doch annähernd die gleichen Ergebnisse erzielt werden. Vollmer und Hübner (1) fanden 1937 ein Maximum der Harnvermehrung nach Darreichung eines 10%igen Ononisdekoktes. Die Diuresesteigerung betrug 42,6%. 20- und 5%ige Dekokte waren schwächer wirksam. Ein Jahr später erzielten Vollmer und Griebel (3) mit einem 10%igen Ononisdekokt keine Diuresesteigerung, sondern tatsächlich eine deutliche Hemmung der Harnausscheidung. Da die Autoren andererseits mit 20%igen, 5%igen und schwächeren Abkochungen eine teilweise recht starke Diurese erhalten hatten, bezeichnen sie das mit dem 10%igen Dekokt erhaltene Ergebnis als merkwürdig. Dabei müssen die Autoren zugeben, daß die große Zahl von Versuchstieren gerade in dieser Gruppe (18 Tiere) diesen Befund eindeutig machen. Uns selbst scheint dieser Befund eindeutiger zu sein als die mit nur 7 oder 8, in einem Falle mit 12 Tieren erzielten Ergebnisse, aus welchen die Autoren eine Diuresesteigerung durch stärkere oder schwächere Dekokte ablesen. Wir vermögen in den genannten Versuchen um so weniger einen Beweis für die von Vollmer und Griebel gezogenen Schlußfolgerungen zu erblicken, als aus anderen Aufzeichnungen der Autoren in der gleichen Arbeit hervorgeht, daß 10%ige Abkochungen aus 2 Ononisdrogen verschiedener Herkunft ebenfalls keine Diuresesteigerung ergaben, vielmehr zu einer geringen Diuresehemmung führten, daß ferner die Vereinigung einer nicht mehr wirksamen Juniperusmenge mit Hauhechel in noch wirksamer Dosis ohne Wirkung blieb, und daß schließlich die Vereinigung der optimalen Juniperusdosis mit drei Ononisdosen zweimal eine Wirkung ergab, die aber wesentlich unter der der Wacholderbeeren blieb. Einander widersprechende Ergebnisse der eben geschilderten Art haben wir mit unserer Versuchsmethodik niemals erhalten. Die Prüfung von 5-, 10- und 20%igen Abkochungen ergab stets eine schwache Diuresehemmung, die mit der Konzentration an Stärke zunahm. Mit dem Wasserdestillat der Radix Ononidis erhielten wir dagegen immer wieder eine Diureseförderung von gleicher Stärke.

Da das Ononisdestillat einen eigentümlichen „Ononisgeruch" besaß, vermuteten wir in ihm ein ätherisches Öl. Es gelang uns, aus dem Wasserdampfdestillat der Rad. Ononidis nach dem üblichen Darstellungsverfahren für ätherische Öle eine dunkelbraune, flüssige, nicht einheitliche Substanz von dem charakteristischen Geruch der getrockneten Hauhechelwurzel in einer Ausbeute von 0,2% zu gewinnen, die wir als ätherisches Hauhechelwurzelöl bezeichnen können (4). Aus diesem ätherischen Öl stellten wir uns nach Vorschrift des DAB. VI ein aromatisches Wasser her, wobei wir Weingeistzusatz vermieden, und prüften dieses aromatische Wasser nach der von uns erprobten und bereits eingehend beschriebenen Methode (2). Die Prüfung wurde zunächst mit einem aromatischen Wasser vorgenommen, das 0,03% ätherisches Öl enthielt, in seiner Ölkonzentration also einem

Ononisdestillat 10/100 annähernd entsprach. Anschließend wurde eine schwächere Anschüttelung 0,1/1000 geprüft. Das Ergebnis dieser Prüfungen ist aus folgender Tabelle zu ersehen.

	Gewicht von 20 Ratten g	Flüssigkeitseinfuhr ccm	Ausgeschiedene Harnmenge nach 45 Min. ccm	60 Min. ccm	4 Std. ccm
1. Februar 1939 Wasser	1972	99	25,5	40	78,5
2. Februar 1939 Anschüttelung 0,3/1000	1962	98	37	55,5	83
3. Februar 1939 Wasser	1978	99	24,5	39,5	73,5
4. Februar 1939 Anschüttelung 0,3/1000	2014	100	33	53	77
6. Februar 1939 Wasser	2009	100	26	44	69,5
7. Februar 1939 Anschüttelung 0,1/1000	2027	100	35	54	75
8. Februar 1939 Wasser	2016	100	26,5	42	76,5
9. Februar 1939 Anschüttelung 0,1/1000	1997	99,5	33	46	77,5

Die ausgeschiedene Harnmenge betrug im Mittel aller 4 Wassertage nach 45 Minuten 25,7 %, nach 60 Minuten 41,5 % und nach 4 Stunden 74,6 % der zugeführten Wassermenge. Diese Zahlen stimmen sehr gut überein mit dem Mittel von 20 Wassertagen (26, 41,4 und 72,4 %), das im Sommer 1937 bei unseren damaligen Versuchen erhalten wurde. Gegenüber der Harnausscheidung an den Wassertagen zeigen die Tage mit der Anschüttelung 0,3/1000 eine durchschnittliche Steigerung von 38 % nach 45 Minuten, von 30 % nach 60 Minuten und von 8 % nach 4 Stunden, die Tage mit der Anschüttelung 0,1/1000 von 32 % nach 45 Minuten, von 20 % nach 60 Minuten und von 3 % nach 4 Stunden. Die Diureseförderung ist also bei der schwächeren Dosierung des ätherischen Öles etwas geringer als bei der höheren Dosierung, die etwa einem 10 %igen Destillat entspricht.

Die hier besprochenen Versuchsergebnisse zeigen eindeutig, daß dem ätherischen Hauhechelwurzelöl eine starke diuretische Wirkung zukommt. 0,5 mg des ätherischen Öles verursachen bereits bei 100 g schweren Ratten eine erhebliche Diuresesteigerung. Andere diuretisch wirkende Substanzen als das von uns isolierte Öl dürfte das Ononisdestillat nicht enthalten, da das Ononisdestillat 10/100 mit einem Mindestgehalt von 0,02 % ätherisches Öl nicht stärker wirkt als eine etwa gleich konzentrierte Ölanschüttelung.

Eine schöne Bestätigung unserer auf Grund der an Ratten erzielten Befunde gezogenen Schlußfolgerungen (2) — daß eine harntreibende

Wirkung nur von solchen Ononiszubereitungen zu erwarten sei, in welchen die flüchtigen Wirkstoffe zur vollen Geltung kommen und der antidiuretische Stoff möglichst ausgeschaltet ist und daß aus diesem Grunde einem Infusum ononidis der Vorzug vor einem Dekokt zu geben sei, die beste Wirkung aber zweifellos von einem Ononisdestillat erwartet werden kann — brachte die klinische Erprobung des Ononisdestillates, die Herr Dr. med. Daniel auf unseren Wunsch durch Vermittlung von D. Schmalz vorgenommen hat. Herr Dr. Daniel teilte uns nach Abschluß der hier besprochenen experimentellen Arbeiten mit, daß die von ihm an erkrankten Menschen vorgenommene klinische Prüfung „in allen geeigneten Fällen eine beträchtliche Steigerung der Diurese ergeben hat. Auffällig war immer ein Nachlassen der die Krankheit begleitenden Schmerzen. Indikationsgebiete: chronische Nephritis (frühes Stadium), Cystitis, Pyelitis und Wasserretention bei leichteren Herzinsuffizienzen".

Herr Dr. Daniel hat sich auch bereit erklärt, das von uns isolierte Öl klinisch zu erproben, sowie gegebenenfalls auch die von uns geprüften Fraktionen des ätherischen Öles. Über die klinischen Erfahrungen mit dem Ononisdestillat und dem Ononisöl wird Daniel an anderer Stelle eingehender berichten.

Zusammenfassung.

Die Autoren hatten in einer früheren Arbeit gezeigt, daß Radix ononidis seine diuretische Wirkung einem mit Wasserdämpfen flüchtigen Körper verdankt. Vollmer und Giebel stellen die Flüchtigkeit des diuretisch wirksamen Prinzips in Abrede und stützen sich hierbei auf experimentelle Ergebnisse, die mit einer unzulänglichen Methode gewonnen worden sind. Die Autoren weisen auf Widersprüche in den Arbeiten von Vollmer und Hübner sowie Vollmer und Giebel hin. Tatsächlich ist das diuretisch wirksame Prinzip mit Wasserdämpfen flüchtig, wie neuerdings klinische Untersuchungen mit dem Ononisdestillat gezeigt haben. Als wirksames Prinzip des Destillates wurde ein dunkelbraunes Öl isoliert, welches bei Ratten noch in Mengen von 0,5 mg die Diurese fördert.

Literatur.

1) Vollmer u. Hübner: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **186**, 592 (1937). — 2) Jaretzky u. Neuwald: Arch. Pharmaz. **1938**, S. 114—121. — 3) Vollmer u. Giebel: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **190**, 522 (1938). — 4) Neuwald: Arch. Pharmaz. **1939**, S. 130.

Aus der Medizinischen Universitätspoliklinik Leipzig.
(Direktor: Prof. Dr. R. Schoen).

Fluoreszenz-Untersuchungen mit dem Thiel'schen Fluoreszenz-Photometer an menschlichen Blutseren.

Von

Rolf Keßler und Walter Tischendorf.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 21. April 1939.)

Fluoreszenzerscheinungen sind schon lange bekannt; ihr Vorhandensein hat sich die Naturwissenschaft zunutze gemacht, indem z. B. mit Hilfe der Fluoreszenzmikroskopie die Kenntnisse in der Histologie und Chemie vertieft werden konnten. Auch in der Mikrochemie stellt die Fluoreszenzanalyse heute eine wichtige Untersuchungsmethode dar, die besonders in der Industrie ihre Anwendung findet. Die Erfahrungen und Nutzanwendung der Fluoreszenzuntersuchungen in Biologie und Chemie sind von Haitinger zusammenfassend dargestellt worden.

Uns interessieren vorwiegend die Fluoreszenzerscheinungen im Blutserum des Menschen; so geben z. B. die Porphyrine als Blutfarbstoff-Abkömmlinge charakteristische Fluoreszenz. Seggel erbrachte den mikroskopischen Nachweis eines vermehrten Gehaltes des Blutes an fluoreszierenden Erythrocyten als sichtbaren Ausdruck eines erhöhten Protoporphyringehalts der roten Blutkörperchen. Aus dem verschiedenen Porphyringehalt der Erythrocyten glaubt man diagnostische Hinweise entnehmen zu können. Die Fluoreszenzbestimmungen der Porphyrine und Porphyrinabkömmlinge, welche in gelöster Form in Serum und Harn, in gebundener Form in den Erythrocyten nachweisbar sind, wurden besonders im Harn vorgenommen, da sie hier von der Fluoreszenz anderer bekannter Harnbestandteile sicherer abzugrenzen sind, als es bei der Vielseitigkeit fluoreszierender Stoffe im Serum zu erwarten war. Im Serum überdecken sich viele Fluoreszenzerscheinungen; so haben z. B. aus dem Gebiete der Vitamine die Flavine, die in jedem Blute vorhanden sind, eine charakteristische Fluoreszenz. Auch Aminosäuren, Hämatochrome, Bilirubin, Salze und Lösungen organischer und anorganischer Verbindungen (Haitinger) rufen Fluoreszenzerscheinungen im Serum hervor. Wenn wir uns trotz der zu erwartenden Überdeckung solcher Fluoreszenzerscheinungen der Untersuchung von Blutseren mit Hilfe des Thielschen Fluoreszenzphotometers zuwandten, so finden wir die Anregung zu unserem Vorgehen in der Beobachtung Reches, nach der beim normalen Menschen eine charakteristische Fluoreszenz in der Gesamtheit des Serums beobachtet

werden kann, die eine Abgrenzung gegen krankhafte Veränderungen ermöglichen soll. 1931 wiesen Reche, später Buchloh, charakteristische Fluoreszenzerscheinungen in normalen Blutseren mit Hilfe der Spektrographie quantitativ nach. Nach Thiel ist der Untersuchungsgang zu schwierig, um ausgedehnte Untersuchungen auszuführen. Thiel verbesserte und vereinfachte die Methodik durch Einführen seines Fluoreszenzphotometers (1), bei dem ebenfalls eine quantitative Messung der Fluoreszenzhelligkeit mit Hilfe der Absolutkolorimetrie möglich ist. Mit diesem Thielschen Photometer stellten wir Fluoreszenzuntersuchungen am Blutserum des Gesunden und Kranken an.

Die technischen Einzelheiten dieses Fluoreszenz-Photometers, der die äußere Gestalt eines einstufigen Kolorimeters hat, sind von Thiel eingehend geschildert worden. Die Fluoreszenz wird durch die Strahlung einer Höhensonne (Typ Hanau), vor deren Brenner eine UV-Glasscheibe (Schott u. Gen., Jena) angebracht ist, an einem primären Standard erregt, welcher ein grünlich-weißliches Mischlicht liefert; wegen der Unsymmetrie der Belichtung ist ein sekundärer Standard nötig; durch Vergleich von primärem zu sekundärem Standard ergeben sich Glaseinheitswerte, die vor jeder Messung als Grundzahlen bestimmt werden müssen. Der primäre Standard ist an der Stelle der Apparatur angebracht, wo das zu untersuchende Objekt (Serum) später eingeschaltet wird. Gemessen wird die Fluoreszenz-Helligkeit an einer graduierten Schraubküvette, die mit einer besonderen Graulösung beschickt ist. Die in der Schraubküvette benutzte Graulösung besitzt den Extinktionsmodul $m = 2{,}50$, d. h., sie ist fünffach so konzentriert wie die sonst zur Verwendung kommende Graulösung ($m = 0{,}500$). 10 mm davon bewirken also eine Lichtschwächung auf das $10^{-2{,}5}$fache, d. h. auf den Bruchteil 0,003. Wenn demnach die Helligkeit eines Objektes so gering ist, daß man über dem primären Standard 10 mm Graulösung mehr einschalten muß, als wenn sich auf der Versuchsseite der sekundäre Standard befindet, so beträgt die Helligkeit des Objektes nur $^3/_{1000}$ der Helligkeit des sekundären Standards. Die vor der Messung festgestellten Grundzahlen werden nun von den Werten, die nach Einstellung des zu untersuchenden Serums an der Graulösungsküvette abgelesen werden, abgezogen; so ergibt sich der wirkliche Wert der Fluoreszenz-Helligkeit des untersuchten Objektes, der in Glaseinheiten ausgedrückt wird; dieser Wert gibt die Fluoreszenz-Helligkeit in Tausendsteln der Standard-Helligkeit an. Durch Vorschaltung einzelner Glasfilter (violett, grün, gelb) kann am Okular die Fluoreszenz-Helligkeit nur einzelner Ausschnitte des Spektrums in zur Einfallsrichtung senkrechtem Licht gemessen werden.

Im Laufe unserer Untersuchungen an etwa 350 Seren mußten unter Mitwirkung von Herrn Prof. Thiel Verbesserungen am Fluoreszenzphotometer vorgenommen werden, um technische Schwierigkeiten auszugleichen. Von den Zahlenwerten in den einzelnen Filtergebieten, welche sich aus dem Verhältnis von primärem zu sekundärem Standard ergeben, sind die Fluoreszenzhelligkeitswerte des Untersuchungsobjektes abhängig. Bei jeder Verschiebung des Strahlenganges der Höhensonne, bei Umstellung, Erwärmung und Wärmeausdehnung des Reflektors verändern sich die Grundzahlen, die sich aus dem Verhältnis der Helligkeit von sekundärem zu primärem Standard ergeben; die eigentlichen Werte der Fluoreszenzhelligkeit des Untersuchungsobjektes im Vergleich zum primären Standard müßten sich aber im selben Maße ändern, um zu gleichen Helligkeitswerten

zu gelangen. Wir beobachteten aber nun, daß sich bei Umstellung des Reflektors wie auch bei Wärmeausdehnung desselben durch Veränderungen des Strahlenganges die eigentlichen Fluoreszenzhelligkeitswerte des Serums nicht parallel den Grundzahlen aus dem Verhältnis von primärem zu sekundärem Standard verschoben, so daß sich andere Glaseinheitswerte ergaben. Mit Thiel führen wir dies auf eine ungleiche Bestrahlung des aus einem farblosen, blau fluoreszierendem, und einem gelben, gelb-grün fluoreszierendem Glase bestehenden Standards zurück; so wird einmal mehr der farblose und einmal mehr der gelbe Teil des Standards angeregt. Da in einem Serum aber die fluoreszierenden Stoffe gleichmäßig verteilt sind, so müssen sich abweichende Glaseinheitswerte ergeben. Bei Grundzahlen der Graulösungsküvette mit Violettfilter von 1,14 mm, mit Grünfilter von 1,06 mm, mit Gelbfilter von 0,92 mm Graulösungsschichtdicke ergaben sich an einem Serum für das Violettfilter 74, für das Grünfilter 65 und für das Gelbfilter 114 Glaseinheiten; für das gleiche Serum ergaben sich bei Grundzahlen im Violettfilter von 1,50 mm, im Grünfilter von 1,00 mm, im Gelbfilter von 0,80 mm Graulösungsschichtdicke aber andere Glaseinheitswerte; die Fluoreszenzhelligkeit des Serums betrug jetzt für das Violettfilter 67, für das Grünfilter 56 und für das Gelbfilter 77 Glaseinheiten. So war im Anfang unserer Untersuchungen die sichere Beurteilung der Fluoreszenzhelligkeit unmöglich.

Ähnliche Verschiebungen der Strahlenrichtung entstanden dadurch, daß die Beleuchtungsquelle mit dem Photometer nicht starr verbunden war; so war während der Untersuchung leicht eine Verschiebung des Lichtbündels zum Fluoreszenzphotometer möglich. Außerdem war eine Entlüftungsmöglichkeit für die starke Wärmeentwicklung der Höhensonne, die durch einen Metallabschluß nur zu einem kleinen Fenster geöffnet war, nicht vorhanden; die Folge war eine durch Wärmeausdehnung bedingte Verziehung des Reflektors und eine sehr schnelle Abnutzung des Höhensonnenbrenners. An dem Quecksilberdampfröhrchen des Brenners entwickelte sich ein gelblicher Niederschlag, der die Helligkeit der Lampe deutlich beeinträchtigte. Jetzt sind diese Fehlerquellen nach Einbau einer Entlüftungsvorrichtung für die Lampe behoben. Außerdem wurde der in der Höhensonne verschiebliche Reflektor auf eine mit Maßstab versehene Schiene gesetzt, so daß jederzeit der gleiche Abstand des Brenners vom Reflektorhintergrund leicht beibehalten werden kann. Weiter mußte die UV-Scheibe, die in dem Fenster der Metallplatte dem Brenner direkt vorgeschaltet war, in die Kühlküvette eingebaut werden, da sie infolge der Wärmeentwicklung mehrmals feine Risse und Sprünge zeigte; hierbei entstanden noch zusätzliche, durch Strahlenbrechung bedingte Verschiebungen des Strahlenganges der Lampe. Durch die von Prof. Thiel vorgenommenen Änderungen und Verbesserungen auf Grund unserer Beobachtungen ist jetzt ein gleichmäßiges und sicheres Arbeiten mit dem Thielschen Fluoreszenzphotometer gewährleistet. Da uns die einzelnen Fehler erst im Laufe

der Untersuchung auffielen, so wird es verständlich, wenn wir nicht alle unsere Beobachtungen genauestens zahlenmäßig belegen können.

Zur Untersuchung von Blutseren im Fluoreszenzphotometer ist gleichmäßiges Arbeiten und Erfüllung wichtiger Bedingungen Voraussetzung. Zunächst muß das Blut vor der Nahrungsaufnahme mit trockener Kanüle entnommen und in ein steriles Glasröhrchen gefüllt werden; durch Zentrifugieren des geronnenen Blutes wird das Serum abgetrennt und noch am Tage der Blutentnahme untersucht. Das Serum muß völlig klar sein; chylöse und hämolytische Seren sind nicht zu verwerten, da sowohl die Fettpartikelchen als auch der freie Blutfarbstoff die Fluoreszenzhelligkeit des Serums grundsätzlich verändern. Feinste Grade von Hämolyse kann man an Hand der Benzidinprobe ausschließen; dabei ergibt ein normales, nicht hämolytisches Serum nur eine geringe, langsam zunehmende, grünlichbläuliche Farbreaktion im Gegensatz zum hämolytischen Serum, welches eine sofortige Bläuung des Benzidingemisches bewirkt. Die Reaktion wird in einem Uhrschälchen auf weißer Grundlage mit nur 1 Tropfen Serum durchgeführt.

Sämtliche Farbstoffe, besonders Hämoglobin und Bilirubin, beeinflussen auch im klaren Serum die Fluoreszenzhelligkeit in der für den betreffenden Farbstoff charakteristischen Weise, so daß infolge Überdeckung eine Beurteilung der Fluoreszenz der nicht farbstoffhaltigen Anteile unmöglich wird. Leicht hämolytische Seren bedingen sehr niedrige Glaseinheitswerte, d. h. nur geringe Helligkeit der Fluoreszenz in allen durch Filter ausgewählten Spektralgebieten (Tabelle I, 2, 3). Auch der nur geringst erhöhte Bilirubinspiegel ruft eine charakteristische Fluoreszenzhelligkeit hervor, die sogar quantitativ gemessen werden kann; bei Vorhandensein von Bilirubin sind die Glaseinheitswerte als Ausdruck der geringen Helligkeit der Fluoreszenz vorwiegend im Violettfilter, weniger im Grünfilter sehr niedrig, während sich für das gelbe Spektralgebiet übliche Werte ergeben (Tabelle I, 4).

Da auch beim gesunden Menschen der Bilirubinspiegel, bestimmt nach Hijmans van den Bergh, geringen Schwankungen zwischen 0,6 und 1,2 mg% unterliegt, so ist es verständlich, wenn wir einen eng begrenzten Normalbereich der Fluoreszenzhelligkeit in den einzelnen Ausschnitten des Spektrums für den Gesunden nicht finden konnten. Durch Kontrolluntersuchungen an verschiedenen Tagen unter gleichen Bedingungen konnten wir bei demselben Menschen, parallel zu Schwankungen des Bilirubinspiegels, grundverschiedene Werte der Fluoreszenzhelligkeit feststellen, die eine Beurteilung der Fluoreszenzänderung im kranken Blutserum, mit Ausnahme der Farbstoffwirkungen, äußerst unsicher machen müssen. So fanden wir bei gesunden Menschen, auch bei Kontrolluntersuchungen desselben Serums, an verschiedenen Tagen im Gegensatz zu Reche keinen gleichartigen, zahlenmäßig gleichwertigen Helligkeitswert der Serumfluoreszenz. Außer Schwankungen des Bilirubinspiegels beeinflussen Stoffe

aus der Nahrungsaufnahme und wohl auch Eiweißverschiebungen diese Schwankungen.

Die Helligkeitswerte der Fluoreszenz, verglichen am primären Standard, schwankten bei unseren Untersuchungen in den Ausschnitten einzelner Spektralgebiete recht erheblich. Für das Violettfilter waren Glaseinheitswerte zwischen 70 und 100, für das Grünfilter zwischen 55 und 80 und das Gelbfilter zwischen 80 und 120 als normal anzusehen (Tabelle I, 1).

Von Reche und Buchloh wird hervorgehoben, daß im Serum des gesunden Menschen nur schwache Fluoreszenz in grünlicher Farbe bei geringer Variation auftrete; auch wir fanden beim Gesunden nur eine geringe Variationsbreite der Helligkeitswerte im Grünfilter. Jedoch sind beide Meßmethoden nicht unbedingt vergleichbar, da mit dem Thielschen Photometer Fluoreszenzhelligkeitswerte und nach Reche und Buchloh Fluoreszenzfärbung eines Serums beobachtet werden. Bei unseren Untersuchungen im Serum des Gesunden und Kranken fielen regelmäßig die geringsten Helligkeitswerte im grünen Spektralgebiet auf.

Obwohl die Grünfilterwerte bei Serum von Gesunden und Kranken zahlenmäßig im Verhältnis zu anderen Filterwerten geringere Schwankungen zeigen und auch absolut geringe Helligkeitswerte erkennen lassen, ergeben sich aus dem Verhältnis der Fluoreszenzhelligkeit in den drei Spektralgebieten untereinander beim Kranken andere Fluoreszenzbilder. So war auch bei Bilirubinerhöhung im Serum bei charakteristischer geringer Fluoreszenzhelligkeit im Violettfilter der Glaseinheitswert im Grünfilter manchmal im Bereich der von uns gefundenen Normalspanne. Es genügt also nicht die Beobachtung der Fluoreszenzhelligkeit in einem Spektralgebiet, da hieraus sichere Schlüsse nicht gezogen werden können.

Aus unseren Fluoreszenzmessungen bei Erkrankungen mit dem erhöhten Bilirubinspiegel, bei perniciöser Anämie, beim Icterus catarrhalis und beim Icterus anderer Aetiologie ergibt sich die Möglichkeit der quantitativen Bestimmung des Bilirubinspiegels auf Grund charakteristischer Fluoreszenzhelligkeit. Je höher der Bilirubinspiegel ist, desto niedriger sind die Glaseinheitswerte, d. h. desto geringer ist die Fluoreszenzhelligkeit im Violettfilter (Tabelle I, 4). Durch Dauerbeobachtungen im Ablauf eines Icterus und einer perniciösen Anämie wird diese Annahme bestätigt. Wenn bei einer perniciösen Anämie im Laufe der Behandlung der durch die hämolytischen Vorgänge zunächst erhöhte Bilirubinspiegel sinkt und damit eine Besserung des gesamten Blutstatus sich einstellt, kommt es zu einer sehr deutlichen Verschiebung der Fluoreszenzhelligkeitswerte in den einzelnen Spektralgebieten. Zunächst ist parallel der Höhe des Bilirubinspiegels die Helligkeit im Violettfilter nur wenige Tausendstel der Standardhelligkeit. Entsprechend dem langsamen Absinken des Bilirubinwertes im Serum steigen die Glaseinheitswerte im Violett langsam an auf Werte, die wir als normal bezeichnen möchten. Ähnlich verhält sich die Fluoreszenzhelligkeit im grünen Ausschnitt des Spektrums, während im Gelbfilter die Werte ziem-

lich konstant bleiben. Die graphische Darstellung (Abb. 1), die die Fluoreszenz-Helligkeitswerte im Laufe der Behandlung der perniciösen Anämie angibt, gilt in ähnlicher Weise auch für jede andere mit Bilirubinerhöhung einhergehende Erkrankung, wie man im Ablauf des Icterus catarrhalis deutlich sehen kann. Aus der Kurve erkennt man weiter, daß z. B. im Grünfilter zeitweise zu einer bestimmten Erhöhung des Bilirubinspiegels fast normale Fluoreszenzwerte auftreten und die Filterwerte der anderen Spektralgebiete sehr nahe aneinanderrücken; obwohl das Serum durch die Bilirubinerhöhung stark verändert sein kann, kann also eine Betrachtung nur eines Spektralgebietes unrichtig gedeutet werden.

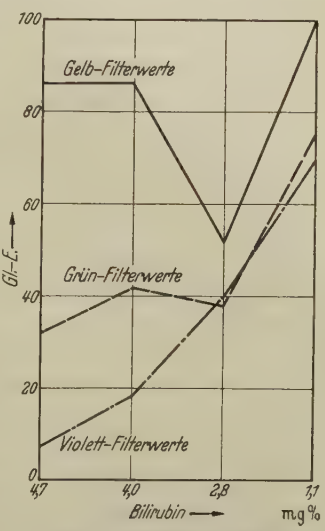


Abb. 1. Graphische Darstellung der Kurve der Fluoreszenzhelligkeit in den durch Violett-Grün- und Gelb-Filter ausgewählten Spektralgebieten im Ablauf von Erkrankungen mit verschieden hohem Serum-Bilirubinspiegel und entsprechender Serum-Farbänderung.

Es ist deshalb in jedem Serum, welches eine Bilirubinerhöhung zeigt, eine Fluoreszenzdiagnostik im Sinne von Reche nicht möglich, da die verschiedene Intensität der Farbstoffe andere Fluoreszenzerscheinungen überdeckt. Außer Bilirubin sind aber im Serum noch viele andere Farbstoffe vorhanden; Porphyrine und unter den Vitaminen die Flavine haben eine charakteristische Fluoreszenz, die somit auch in jedem Serum nachweisbar sein muß und ebenfalls zu Fehlern in der Beurteilung führen. So bewirken die Karotine und Karotinoide (Luochrome und Flavine), wenn sie bei reichlichem Karottengenuß in größeren Mengen aufgenommen werden, schon eine äußerlich an Haut, Schleimhäuten, Skleren und im Serum auffällige Gelbfärbung, welche im Serum bei unseren Untersuchungen die Fluoreszenzhelligkeit in bestimmter Weise verändert. Im Gegensatz zu Bilirubinerhöhung mit den nur geringen Fluoreszenzhelligkeitswerten im Violettfilter sehen wir dann nur eine geringe Herabsetzung der Filterwerte in Violett. Auffällig war aber die überaus hohe Helligkeit im Gelbfilter, wie wir sie bei keinem anderen Serum wieder beobachten konnten.

Karotin (Cartonin krist.) zeigte nun die für dieses Serum charakteristische Fluoreszenzhelligkeit nur in geringerem Maße. Da Karotin nur fettlöslich ist, mußte als Lösungsmittel zunächst Paraffinöl im Fluoreszenzphotometer untersucht werden. In diesem Paraffinöl wurde das Karotin gelöst und verschiedene Verdünnungen nach der Farbintensität hergestellt. Dabei zeigte sich bei zunehmender Konzentration der Karotinlösung ein Ansteigen der Helligkeitswerte im Gelbfilter und ein Absinken

der Fluoreszenzhelligkeit im violetten Filterbereich. Die Helligkeit der Fluoreszenz im Grünfilter wurde nur bei stärkster Konzentration des Karotins im Lösungsmittel verändert (Tabelle I, 11).

Vitamin A als Vogan zeigte nun die helle gelbe Fluoreszenz, wie sie uns bei dem Serum nach Karottengenuß auffiel; es scheint aber nicht das farblose Vitamin A, sondern die im Vogan vorhandene Gelbfärbung die Ursache der hellen Gelbfluoreszenz zu sein. Da in einem solchen nach Karottengenuß gelben Serum auch die Flavine vermehrt sein müssen, untersuchten wir auch Vitamin B 2 als Lactoflavin, indem wir es in geringster Verdünnung zu einem sogenannten Normalserum zusetzten. Schon makroskopisch riefen geringste Flavinverdünnungen eine grellweißgelbe Fluoreszenz hervor, die viel heller als in der konzentriertesten Karotinlösung war. Im Kolorimeter zeigte sich beim Lactoflavin eine sehr große Gelbhelligkeit der Fluoreszenz, die der des obigen Serums entsprach (Tabelle I, 6, 11).

Daß die helle Gelbfluoreszenz in dem Serum nach Karottengenuß für das Lactoflavin charakteristisch ist, konnten wir durch folgenden Versuch bestätigen, gaben wir zu einem sogenannten Normalserum einen Tropfen einer Lactoflavinlösung 1 : 10 aqua dest. auf 2 ccm Serum, so machte sich eine noch hellere Fluoreszenz im Gelbfilter bemerkbar. Setzten wir aber zu einem Normalserum einen Tropfen einer Lactoflavinlösung 1 : 100 aqua dest. zu, so kamen wir ungefähr auf gleiche Fluoreszenzhelligkeitswerte wie wir sie im Serum einer unserer Kranken fanden, die nach einem täglichen Karottengenuß ($^1/_2$ kg) eine allgemeine Karotin- und Flavinvermehrung beobachten ließ. Besonders erwähnenswert scheint uns die Tatsache, daß der Flavingehalt nur die Werte im Gelbfilter, aber wenig im Grünfilter und nicht im Gelbfilter verändert. So läßt sich an einem solchen gelben Serum eine Bilirubinerhöhung von anderen Gelbfärbungen, hier durch die Flavine bedingt, sicher abgrenzen.

Auch eine Erniedrigung des Serumbilirubinspiegels läßt sich mit der Fluoreszenz nachweisen. Dadurch ist z. B. die Unterscheidung des Serums einer perniciösen Anämie und einer hypochromen Anämie auf Grund des verschiedenen Bilirubinspiegels möglich. So ist bei hypochromen Anämien, die sich sekundär nach Ulcusblutung und Hämorrhoidalblutungen entwickeln, der Eisenspiegel und auch der Bilirubinspiegel im Serum erniedrigt, jedenfalls immer an der unteren Grenze der Norm. Bei solchen hypochromen Anämien beobachteten wir regelmäßig sehr hohe Fluoreszenzhelligkeit im violetten Spektralgebiet. Dies steht gerade im Gegensatz zum erhöhten Bilirubinspiegel bei dem bekanntlich nur wenige Tausendstel der Standard-, Fluoreszenzhelligkeit im Violettfilter vorhanden sind. Diese hohen Helligkeitswerte beobachteten wir auch bei manchen hypochromen Anämien, wie sie bei Carzinomen des Verdauungstraktes häufig vorkommen. Einzelne sekundäre Anämien bei Magencarzinomen ließen sich aber nicht in dieser Überlegung einreihen; dies wird sofort verständlich, wenn man bedenkt,

welchen Umwälzungen der Stoffwechsel bei solchen Erkrankungen unterworfen wird. So braucht bei diesen hypochromen Anämien der Bilirubinspiegel nicht erniedrigt zu sein, wenn bei den chronischen Entzündungen im Magen und Duodenum ascendierende Infektionen der Gallenwege dazukommen oder sich Metastasen in der Leber und in den periportalen Drüsen entwickeln. Wir sahen bei einem Carzinom des Magens mit schwerer Anämie und metastatischem Icterus nur die für die Bilirubinerhöhung charakteristischen Fluoreszenzveränderungen, während für die hypochrome Anämie typische Merkmale nicht zur Geltung kamen.

In zahlreichen Seren von Kranken, die an Tumoren des Verdauungstraktes litten, beobachteten wir öfters eine Senkung der Fluoreszenzhelligkeit unter die Normalwerte im Grünfilter, ohne daß diese Veränderungen von Anämie abhängig waren. Jedoch ist unseres Erachtens eine Fluoreszenzdiagnostik und besonders eine Frühdiagnose des Carzinoms aus dem Blutserum nicht möglich.

Wir haben 40 Sera von Kranken, die an Carcinom des Verdauungstractus litten, untersucht und dabei häufig eine Erniedrigung der Fluoreszenzhelligkeit im Grünfilter gesehen, ohne daß dies für Carcinom charakteristisch wäre. Auch geringe Infekte (Rhinitis, grippöse Infekte) können vorübergehend eine geringere Fluoreszenzhelligkeit gerade im Grünfilter bedingen, so daß man die oft äußerst geringe Helligkeit der Fluoreszenz im Grünfilter in Seren von Carcinomkranken nicht für Carcinom typisch ansehen kann.

Zwischen beschleunigter Blutsenkungsreaktion bei Tumoren und Entzündungen und der Fluoreszenzhelligkeit in den von uns untersuchten und ausgewählten 3 Spektralgebieten besteht kein erkennbarer Zusammenhang.

Bei Nierenerkrankungen geht verschiedenen Höhen des Reststickstoffs keine charakteristische Änderung der Fluoreszenzhelligkeit parallel. Auffällig war, daß wir nach medikamentöser Behandlung eines Kranken Fluoreszenz-Helligkeitsveränderungen im Vergleich zur Zeit vor der Behandlung beobachten konnten. Besonders auffällig war dies bei 2 Addison-Kranken, die nach Hormonbehandlung mit Pancortex deutliche Veränderungen zeigten. Bei leukämischen Bluterkrankungen (Lymphadenosen und Myelosen) konnten wir nennenswerte Verschiebungen der Fluoreszenzhelligkeit nicht feststellen, obwohl hier durch Erhöhung des Harnsäurespiegels recht erhebliche Veränderungen im Blutserum bestehen. Aber auch hier scheinen die Farbstoffe und besonders das Bilirubin einen überdeckenden Einfluß auszuüben. Bei verschiedenen Stadien von Tuberkulose und Diabetes mellitus konnten wir keine der Schwere des Krankheitsbildes entsprechenden Abweichungen der Fluoreszenzhelligkeit vom Normalwert feststellen.

Auch bei Tuberkulose und Diabetes ist wegen der Stoffwechselveränderungen eine sichere diagnostische Beurteilung der Fluoreszenzhelligkeit

Tabelle I. 1—11. Glaseinheitswerte als Ausdruck der Fluoreszenzhelligkeit im violetten, grünen und gelben Spektralbereich. Charakteristische Beispiele der Untersuchungsergebnisse.

Nr.	Violettfilter-Glaseinheiten	Grünfilter-Glaseinheiten	Gelbfilter-Glaseinheiten	Untersuchungsobjekt
1	70 — 100	55 — 80	80 — 120	Schwankungsbereich d. Fluoreszenzhelligkeit im normalen Serum des gesunden Menschen
2	24	33	41	Allg. Senkung der Fluoreszenzhelligkeit im gering hämolytischen Serum
3	0*	8	8	Äußerst geringe Fluoreszenzhelligkeit in 3 Filtern bei stärkster Hämolyse (Kältehämoglobinurie)
4	0—8*	24	86	10,0—4,7 mg % Serum-Bilirubin-Spiegel: Ablauf einer m. Bilirubinerhöhung einhergehenden Erkrankung
	17	42	82	4,0 mg %
	40	38	54	2,8 mg %
	70	76	100	1,1 mg %
5	60	73	150	Vermehrter Carotingehalt des Serums nach Karottengenuß
6	87	94	130	Ein Tropfen laktoflavin, verdünnt. auf 1:100 aqua dest.
	87	126	226	1: 10 aqua dest. 2 ccm Normalserum
7	130	87	102	Sekundärhypochrome Anämie bei Blutung (56 % Hb, 2,9 Millionen Erythrocyten)
8	1) 73	46	69	Magencarcinome. 1—3 mit geringer
	2) 60	43	71	Fluoreszenzhelligkeit im Grünfilter;
	3) 40	49	86	4 uncharakteristische Fluoreszenz
	4) 70	60	92	bei Ca. ventriculi
9	0*	45	266	Vitamin A als reines Vogan („Merck“)
10	50	28	47	Chlorophyll in normalem Serum
11				Carotin (Cartonin crist.) in Paraffinöl gelöst.
	38	41	112	1. Intensiv gelbbräunlich,
	86	29	79	2. dünngelb
	100	29	80	3. hellgelb-zartgefärbt,
	112	26	47	4. reines Paraffinöl.

* Wegen zu starker Dunkelheit nicht bestimmbar.

aus einem Blutserum nicht möglich. Wenn auch das Thielsche Fluoreszenzphotometer jetzt einwandfreies Arbeiten gewährleistet, so kann doch wegen der unzähligen, sich überdeckenden Fluoreszenzerscheinungen in einem Blutserum eine für bestimmte Krankheiten meßbare und charakteristische Serum-Fluoreszenzhelligkeit nicht abgelesen werden.

Zusammenfassung.

Auf Grund unserer Untersuchungen der Blutseren von Gesunden und Kranken im Thielschen Fluoreszenzphotometer kommen wir zu dem Schlusse, daß die Fluoreszenzhelligkeitsbestimmungen in einzelnen Ausschnitten der Spektralgebiete in einem Blutserum nur mit Einschränkungen zu diagnostischen Schlüssen brauchbar erscheinen; einen erheblichen Einfluß auf die Fluoreszenz üben die Blutfarbstoffe und die Flavine aus, welche schon beim Normalen großen Schwankungen unterworfen sind, so daß der Normalwert einen verhältnismäßig breiten Bereich einnimmt. Immerhin ist die Fluoreszenzphotometrie als diagnostisches Hilfsmittel nicht von der Hand zu weisen. Es wird aber darauf ankommen, auf nunmehr gegebenen technisch einwandfreien Grundlagen noch sichere diagnostische Merkmale zu entwickeln, was die Beseitigung noch vorhandener störender Einflüsse von seiten des Serums voraussetzt.

Literatur.

1) Haitinger, M.: Fluoreszenzmikroskopie, ihre Anwendung in der Histologie und Chemie. Leipzig, Akad. Verlagsges., 1938. — 2) Haitinger, M.: Die Fluoreszenzanalyse in der Mikrochemie. Wien, Leipzig, E. Haim, 1937. — 3) Seggel: Sitzungsbericht der 1. Haemat. Tagung Münster-Pyrmont. Verlag Medizin. Welt, 1937. — 4) Seggel: Fol. haemat. (D.) **52**, 250 (1934). — 5) Thiel, A.: Biochem. Z. **294**, 221 (1937). — 6) Reche: Z. Rassenphysiol. Bd. 4, Heft 3/4 (1931). — 7) Reche u. Schilling: Ebenda Bd. 6, Heft 3/4 (1933). — 8) Buchloh, W.: Ebenda Bd. 6, Heft 3/4 (1933).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Oslo.
(Chef: Prof. Dr. med. Klaus Hansen.)

Einige orientierende Versuche über die narkotische Stärke von Deutero-Äthyläther ($C_2D_5OC_2D_5$) im Vergleich mit Äthyläther.

Von

Klaus Hansen und **Ottar Dybing.**

(Eingegangen am 2. April 1939.)

In einer früheren Arbeit wurde gezeigt, daß der deutero-substituierte Äthylalkohol (C_2D_5OD) eine gegenüber gewöhnlichem Äthylalkohol deutlich stärkere narkotische Wirkung aufweist [Klaus Hansen und Ottar Dybing (1)]. Es dürfte von Interesse sein zu untersuchen, ob die Verstärkung der narkotischen Wirkung durch Einführung von Deuterium in ein indifferentes Narkoticum eine konstante Erscheinung ist.

Norsk Hydro-Elektrisk Kvaelstofaktieselskab, Oslo, hat uns eine kleine Menge Deutero-Äther zur Verfügung gestellt. Nach Angaben der Fabrik ist der Deutero-Äther aus Deutero-Alkohol und Deutero-Schwefelsäure in üblicher Weise hergestellt worden. Der derart erhaltene Rohäther wird fraktioniert und über frischgebranntem Kalk destilliert. Das fertige Produkt enthält vermutlich geringe Mengen Deutero-Äthylalkohol und Deutero-Acetaldehyd, jedoch nur in verschwindendem Maße, wahrscheinlich nur spurenweise. Folgende physikalische Daten werden angegeben: Deuteriumgehalt $= 99{,}2 \cdot \frac{g \cdot D \cdot 100}{g\,(D + H)}$, $Sp_{734} = 32{,}3^0$ C, (Äthyläther $Sp_{374} = 33{,}7^0$ C), sp. G. bei $+ 20^0$ C $= 0{,}8168$.

Es sind vergleichende Untersuchungen der narkotischen Wirkung dieses Deutero-Äthyläthers und gewöhnlichen Äthyläthers ausgeführt worden. Als Versuchsobjekt diente eine Reinkultur von Daphnia magna Straus. Die Tiere wurden in wässerige Ätherlösungen von bekannter Konzentration eingebracht; als Kriterium der Narkose diente vollständige Unbeweglichkeit nach 30 Minuten Verweilen in der Flüssigkeit, jedoch derart, daß die Tiere aus der Narkose erwachen, wenn sie nach Ablauf dieser Zeit in reines Wasser gebracht werden.

Wässerige Ätherlösungen bekannter Konzentration wurden aus einer zuerst hergestellten 1%igen Lösung durch Entnahme berechneter Menge und nachfolgender Verdünnung mit Leitungswasser auf 50 ml in Meßkölbchen bereitet. Zu jedem Einzelversuch wurden 10 Daphnien in 50 ml Ätherlösung verwendet. Die Konzentrationsangaben beziehen sich grundsätzlich in dieser Arbeit auf das Gewicht.

Zuerst wurde die mittlere narkotische Konzentration (ND 50) von Äthyläther auf Daphnia magna bestimmt. Die Berechnung von ND 50 wurde nach einer von Kärber (2) angegebenen Formel vorgenommen; das Ergebnis ist in Tabelle 1 wiedergegeben.

Tabelle 1. Die narkotische Wirkung von Äthyläther auf Daphnia magna.

$C_4H_{10}O$ in ‰	Narkose nach 30 Min.	$C_4H_{10}O$ in ‰	Narkose nach 30 Min.
1,0	0 von 20	1,5	16 von 20
1,1	3 „ 20	1,6	15 „ 20
1,2	7 „ 20	1,7	19 „ 20
1,3	8 „ 20	1,8	19 „ 20
1,4	12 „ 20	1,9	20 „ 20

ND = 1,42 ‰.

Die mittlere narkotische Konzentration von Äthyläther gegenüber Daphnia magna ist somit 1,4‰ = 0,019 mol.; dies bedeutet, daß von einer beliebigen Anzahl Versuchstiere 50% der Tiere bei dieser Ätherkonzentration narkotisiert werden. Dieser Umstand ist beim Vergleich der narkotischen Stärke von Deutero-Äthyläther und Äthyläther zugrunde gelegt.

In 2 Serien ist sodann untersucht worden, wie viele von 100 Daphnien beim Einbringen in äquimolare Lösungen von Äthyläther und Deutero-Äthyläther narkotisiert werden. Es wurde die mittlere narkotische Konzentration von Äthyläther (0,019 mol.) verwendet, sonst wurde der Versuch in derselben Art wie die vorhergehenden Einzelversuche mit je 10 Daphnien durchgeführt. Das Ergebnis dieses Vergleichs ist aus Tabelle 2 ersichtlich.

Tabelle 2. Die narkotische Wirkung von Äthyläther und Deutero-Äthyläther auf Daphnia magna.

	Konzentration in mol.	Konzentration in ‰	Anzahl Daphnien im Versuch	Anzahl narkotisierter Daphnien
$C_4H_{10}O$	0,019	1,4	100	48
$C_4D_{10}O$	0,019	1,6	100	44

In diesen Versuchen wurden von 100 Daphnien bei einer Ätherkonzentration von 0,019 mol. 48 Daphnien mit Äthyläther und 44 mit Deutero-Äthyläther narkotisiert. Dieser Unterschied ist indessen so gering, daß man nicht auf Grund dieser Beobachtungen sagen kann, daß die beiden Äther verschiedene narkotische Stärke haben. Die Erweiterung dieser Versuche auf andere Versuchsobjekte war infolge der geringen verfügbaren Deutero-Äthyläthermenge nicht möglich. Die vorliegenden Versuche deuten darauf hin, daß die narkotische Wirkung von Deutero-Äthyläther jedenfalls nicht erheblich von jener gewöhnlichen Äthers abweicht.

Zusammenfassung.

Es wurden vergleichende Untersuchungen der narkotischen Stärke von Deutero-Äthyläther ($C_2D_5OC_2D_5$) und gewöhnlichem Äthyläther auf Daphnia magna Straus ausgeführt.

Die mittlere narkotische Konzentration von Äthyläther wurde zu $1{,}4\,^0/_{00} = 0{,}019$ mol. bestimmt. In 0,019 mol. Lösungen beider Äther wurden von je 100 Daphnien 48 in Äthylätherlösungen und 44 in Deutero-Äthylätherlösungen narkotisiert. Man schließt hieraus, daß die narkotische Stärke von Deutero-Äthyläther nicht wesentlich von jener des gewöhnlichen Äthyläthers abweicht.

Schrifttum.

1) Hansen, Klaus u. Ottar Dybing: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 275 (1938). — 2) Kärber, G.: Ebenda **162**, 480 (1931).

Aus der Pharmakologischen Anstalt der Universität Jena.

Fällungsreaktionen von Chinolin und Chinolinsäureimid mit Phenolsubstitutionsprodukten.

Von

Labes, Krauskopf und **Bergstermann.**

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 17. April 1939.)

In den Arbeiten von Labes[1] und Bergstermann mit Nöcker und Krauskopf[2] waren die chemisch-konstitutiven Gesetzmäßigkeiten bei der Bildung schwerlöslicher Molekülverbindungen zwischen Pyridinsubstitutionsprodukten und substituierten Phenolen untersucht worden. In dieser Arbeit soll geprüft werden, wie die Reaktionen der Pyridinderivate auf die Phenolderivate sich ändern, wenn man dem Pyridin einen zweiten Ring mit Doppelbindungen angliedert. Aus diesem Grunde haben wir das Chinolin gewählt, in dem dieser zweite Ring in mancher Beziehung dem Benzolring ähnelt, und außerdem das Chinolinsäureimid, in dem der zweite Dicarbonsäureimidring einem oxydierten Pyrrolderivat mit ziemlich saurem Charakter entspricht.

I. Über die Versuchsanordnung und die Eigenschaften der Reaktionspartner.

Die Versuchsanordnung schließt sich vollkommen an die früheren Arbeiten an. In Reagensglasversuchen wurden bestimmte Vorlagemengen der Phenolausgangslösungen einpipettiert und gegebenenfalls nach einem geeigneten Pufferzusatz fallende Mengen der Chinolin- bzw. der Chinolinsäureimidlösung zugegeben. Durch Zusatz von dest. Wasser in geeigneter Menge wurde gesorgt, daß nach dem Zusatz der Base in allen Röhrchen das Gesamtflüssigkeitsvolumen 10 ccm betrug. Dann wurde ermittelt, welche kleinste Konzentration G_N des Pyridinderivates noch gerade genügte, um mit der bei der betreffenden Phenolvorlage erzielten Konzentration G_{Ph} des Phenolderivates zu einer sichtbaren Ausfällung des Reaktionsproduktes zu führen. Die Versuchsdaten der Chinolinuntersuchungen sind in der Inauguraldissertation von Friedrich, Jena 1938, niedergelegt, so daß wir uns bei der Wiedergabe der Versuche nur auf wenige Bemerkungen über das Chinolin beschränken und die Reaktionsdaten nur graphisch an Hand einer Abbildung wiedergeben.

I A. Bemerkungen über das Chinolin.

Das flüssige Chinolin bezogen wir als Chinolinum puriss. synthetic. von Merck. Als Ausgangslösung für die Chinolinversuche benutzten wir eine 0,03 molare (etwa 0,4%ige) wässerige Chinolinlösung, da das Chinolin nicht stärker löslich war. Seine

[1] Labes: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **190**, 421 (1938). — [2] Bergstermann, Nöcker u. Krauskopf: Ebenda **191**, 55 (1938).

Basendissoziationskonstante beträgt nach Landolt-Börnstein etwa 10^{-9} entsprechend einer reziproken Basendissoziationskonstante von etwa $k_r = 1 \cdot 10^{-5}$. Entsprechend dieser schwachen Basizität brauchten wir bei den Chinolinversuchen mit den schwach dissoziierenden Phenolen keinen Puffer; zur Sicherheit wiederholten wir diese Versuche aber auch noch mit einem Zusatz von 1 ccm Phosphatpuffer $[H^+] = 4 \cdot 10^{-7}$; die Versuchsresultate blieben dadurch unverändert, da auch bei diesem Puffer das Chinolin nicht dissoziierte, und die Gesamtkonzentration G_N an Chinolin auch zugleich die Konzentration $D_{n_\varrho} \cdot G_N$ an undissoziiertem reaktionsfähigem Chinolin darstellt. Bei den Versuchen mit den stärker dissoziierenden Nitrophenolen gaben wir immer 1 ccm Phosphatpuffer $[H^+] = 4 \cdot 10^{-7}$ zu, um durch Zurückdrängung der Nitrophenoldissoziation den Dissoziationsrest D_{Ph_ϱ} praktisch auf den Wert 1 zu bringen. Bei den Versuchen über die Reaktionen von Chinolin mit den Aminophenolen verwendeten wir keinen besonderen Pufferzusatz. Die Ausgangslösungen vom Paraaminophenol und Orthoaminophenol waren, wie später gezeigt wird, bereits selbst auf $[H^+] = 4 \cdot 10^{-7}$ bzw. $[H^+] = 1 \cdot 10^{-7}$ gepuffert. Bei der Metaaminophenolausgangslösung dagegen kamen sowohl ungepufferte als auch gepufferte Lösungen für die Chinolinversuche zur Verwendung.

I B. Bemerkungen über das Chinolinsäureimid.

Die Herstellung des Chinolinsäureimids ist in der Dissertation Nöcker, Jena 1939, näher beschrieben, da es als Ausgangspunkt für das dort untersuchte 3-Aminopyridin verwendet wurde. Bei dieser Darstellung nach Sucharda, B., Bd. 58, 1925, wurde die Chinolinsäure durch Essigsäureanhydrid in Chinolinsäureanhydrid überführt und dieses durch Zusatz von Acetamid in Chinolinsäureimid verwandelt. Das Präparat wurde durch Umkristallisieren aus Wasser unter Zusatz von Kohle gereinigt und zeigt einen Schmelzpunkt von 230°. Die schönen weißen Kristalle lösen sich erst im heißen Wasser gut. Eine 0,4%ige Lösung fällt nach Abkühlen wieder aus, eine 0,3%ige Lösung bleibt auch bei Zimmertemperatur gelöst. Diese Lösung rötet Lackmuspapier und entfärbt Paranitrophenol völlig, γ-Dinitrophenol auf einen Farbgrad von 0,04 (entsprechend einer Wasserstoffionenkonzentration von etwa $2 \cdot 10^{-4}$).

Um die Dissoziationsverhältnisse des Chinolinsäureimids als Base kennenzulernen, versetzten wir 8 ccm 0,3%iges Chinolinsäureimid (enthaltend 0,16 Millimol) mit 0,8 ccm n/10 Salzsäure, gaben 1 ccm 0,33‰ β-Dinitrophenol dazu, füllten auf 10 ccm Aqua dest. auf und bestimmten den Farbgrad des β-Dinitrophenols nach Michaelis, Praktikum der physikalischen Chemie, Berlin, Verlag Julius Springer, 1930, zu 0,03 (entsprechend einer Wasserstoffionenkonzentration $[H^+] = 6 \cdot 10^{-3}$). Nehmen wir an, daß von den 0,16 Millimol Chinolinsäureimid durch den Zusatz von 0,08 Millimol Salzsäure sich 0,08 Millimol des salzsauren Salzes vom Chinolinsäureimid gebildet hätten und dementsprechend eine gleich große Millimolzahl von 0,08 Millimol undissoziierten Chinolinsäureimids zurückgeblieben sei, so würde bei dem Millimolverhältnis 1 : 1 von salzsaurem Salz zu undissoziierter Base die reziproke Basendissoziationskonstante des Chinolinsäureimids den Wert der ermittelten Wasserstoffionenkonzentration aufweisen, d. h. $k_r = [H^+] = 6 \cdot 10^{-3}$ sein. Diese Vermutung schien zu stimmen; denn wenn wir zu 8 ccm 0,3%igem Chinolinsäureimid nur die Hälfte bzw. ein Viertel bzw. ein Achtel soviel Salzsäure zusetzten, so war dem vergrößerten Farbgrad des β-Dinitrophenols entsprechend die Wasser-

stoffionenkonzentration etwa $^1/_2$- bzw. $^1/_4$- bzw. $^1/_8$mal so klein als im ersten Versuchsröhrchen. Bei genauerer Überlegung ist aber der vorher erwähnte Schluß auf die reziproke Basendissoziationskonstante irrig; denn die Wasserstoffionenkonzentration der Versuchsröhrchen ist so groß, daß die zugesetzte Salzsäure zum größten Teil zur Bestreitung der ermittelten Wasserstoffionenkonzentration verbraucht wird und infolgedessen nur ein verschwindend kleiner Teil der zugesetzten Salzsäure zur Bildung des salzsauren Salzes des Chinolinsäureimids übrig bleiben kann. Die reziproke Basendissoziationskonstante des Chinolinsäureimids ist also sicherlich wesentlich größer als der obige Wert, oder umgekehrt ausgedrückt, die Basizität des Chinolinsäureimids ist wesentlich kleiner als dem obigen Scheinwert k_r zu entsprechen scheint. Die saure Dicarbonsäureimidgruppe schwächt also die Basizität des Pyridinstickstoffs ungeheuer stark ab oder vernichtet sie sogar.

Um die Säuredissoziationskonstante des Chinolinsäureimids zu ermitteln, versetzten wir 8 ccm 0,3%iges Chinolinsäureimid mit 0,8 ccm n/10 Natronlauge, verwandelten also die Hälfte des Chinolinsäureimids in das Natronsalz des Chinolinsäureimidanions, während die andere Hälfte als undissoziiertes Chinolinsäureimid zurückblieb; da hier das Millimolverhältnis zwischen undissoziiertem (saurem) Chinolinsäureimid und seinem Natronsalz 1 : 1 war, so mußte die Wasserstoffionenkonzentration gleich der Säuredissoziationskonstante des Chinolinsäureimids sein. Nach dem Farbgrad, der nach dem Zusatz von 1 ccm 0,4‰ Phenolphthalein und Auffüllung mit Aqua dest. auf 10 ccm resultierte, betrug die Wasserstoffionenkonzentration des Gemisches etwa $[H^+] = 5 \cdot 10^{-9}$; setzten wir kleinere oder größere Mengen Natronlauge zu 8 ccm 0,3%igem Chinolinsäureimid, so war die Wasserstoffionenkonzentration genau soviel größer bzw. kleiner als sich aus dem Millimolverhältnis von undissoziiertem Chinolinsäureimid zu seinem Natronsalz sowie der oben ermittelten Säuredissoziationskonstanten ergab. In all den untersuchten Röhrchen verblaßte die Phenolphthaleinfarbe äußerst schnell, und zwar halbierte sich der Farbgrad des Phenolphthaleins jeweilig in etwa 5 Minuten, bis die Phenolphthaleinfarbe völlig verschwand und wir zur Bestimmung der immer größer werdenden Wasserstoffionenkonzentration einige Zeit nach dem Natronlaugezusatz zunächst Metanitrophenol, dann Paranitrophenol und schließlich γ-Dinitrophenol verwenden mußten. Auch im Bereich dieser Indikatoren bis in den Bereich von $[H^+] = 10^{-5}$ hinein verdoppelte sich durchschnittlich in etwa 5 Minuten die Wasserstoffionenkonzentration. Daraus folgt, daß von den jeweilig vorhandenen Anionen des Chinolinsäureimidnatronsalzes in etwa 5 Minuten die Hälfte in das Natronsalz einer viel stärkeren Säure zerfällt, das in diesem $[H^+]$-Bereich bis $[H^+] = 10^{-5}$ nicht mehr merklich in die Pufferung eingreifen kann. Ob es sich bei dieser starken Säure um ein Monoamid der zweiwertigen Chinolinsäure, z. B. Chinolinaminsäure, oder das primäre Ammoniumsalz der Chinolinsäure handelt, läßt sich mit dieser Methode nicht feststellen. Hier sei nur bemerkt, daß wir die gleiche Zunahme der Wasserstoffionenkonzentration beobachteten, wenn wir das Chinolinsäureimid statt mit Natronlauge mit Ammoniak alkalisierten.

Wegen des schnellen Zerfalles des Chinolinsäureimids nach Natronlaugezusatz versetzten wir jeweilig 8 ccm Chinolinsäureimid zuerst mit 1 ccm der Phenolphthaleinlösung bzw. der anderen Indikatorlösung, dann gaben wir zur Auffüllung auf 10 ccm Gesamtvolumen die nötige Menge Aqua dest. und erst zuletzt die Natronlauge, die den Zerfall in Gang setzte; der sofort danach bestimmte Farbgrad des Indikators wurde der Berechnung der Säuredissoziationskonstante des Chinolinsäureimids zugrunde gelegt. Diese ergab bei allen Zusatzverhältnissen von Natronlauge den Wert $k_s = 5 \cdot 10^{-9}$.

Es war auffallend, daß sich die Wasserstoffionenkonzentration der Chinolinsäureimid-HCl-Gemische im Gegensatz zu den Chinolinsäure-Natronlaugegemischen nicht änderte. Würde trotzdem in diesem stark sauren Gebiet das Chinolinsäureimid in eine Säure zerfallen, so könnte sich dies unter Umständen darum nicht verraten, weil diese unbekannte Säure nicht stark genug war, um bei den vorliegenden Säureverhältnissen Wasserstoffionen abzuspalten. Die eventuell gebildete Säure müßte sich aber dann verraten, wenn man genügend alkalisierte. Aus diesem Grunde gaben wir Chinolinsäureimid-Salzsäuregemischen nach einigen Stunden soviel Natronlauge zu, daß nicht nur die vorher zugesetzte Salzsäure neutralisiert wurde, sondern noch 0,8 ccm n/10 Natronlauge im Überschuß sich befanden; dann resultierte im ersten Moment nach der Natronlaugezugabe dieselbe Wasserstoffionenkonzentration, als ob wir zu den 8 ccm 0,3%igen Chinolinsäureimid sofort ohne vorherige Salzsäurezugabe 0,8 ccm n/10 Natronlauge zugegeben hätten. Daraus geht hervor, daß unter der Salzsäurevorbehandlung das Chinolinsäureimid sich nicht in eine stärkere Säure zersetzt hat.

Noch eine weitere Möglichkeit war zu bedenken. Beim Acetessigester braucht die Keto-Enolumwandlung, die aus der nicht sauer reagierenden Ketoform zur sauer reagierenden Enolform führt, Stunden bis zum Eintritt des Gleichgewichtes. Man könnte nun denken, daß bei der Laktam-Laktim-Tautomerie des Chinolinsäureimids die Umwandlung des schwächer sauren in den stärker sauren Körper ebenfalls langsam vor sich ginge, so daß die sich an den Natronlaugezusatz anschließende langsame Säuerung nicht auf einer langsamen Bildung von Chinolinaminsäure oder primärem chinolinsaurem Ammonium beruhte, sondern auf der langsamen Bildung der stärker sauren Laktimform; dann wäre diese Säuerung, die sich an den Zusatz von 0,8 ccm n/10 Natronlauge zu 8 ccm 0,3%igem Chinolinsäureimid anschließt, ein reversibler Prozeß, und wir müßten diesen Vorgang dadurch rückgängig machen können, daß wir 1 oder 2 Stunden nach dem Natronlaugezusatz die Natronlauge durch HCl wieder neutralisierten; wenn dann dieses Gemisch wiederum einige Stunden gestanden hätte, müßte sich die ursprüngliche Laktamform wiedergebildet haben, und ein zweiter Natronlaugezusatz auf das Chinolinsäureimid so wirken, als ob die Vorbehandlung mit Natronlauge und HCl überhaupt nicht erfolgt wäre. Die ermittelte Wasserstoffionenkonzentration zeigte aber, daß die durch den ersten Natronlaugezusatz gebildete Menge von 0,08 Millimol des Chinolinsäureimidnatronsalzes irreversibel in das Salz einer starken Säure zerfallen war und nur noch der Rest von 0,08 Millimol des nicht in das Natronsalz verwandelten Chinolinsäureimids übrig geblieben waren; denn wir sahen beispielsweise beim zweiten Natronlaugezusatz, daß 0,8 ccm $^1/_{10}$ mol. Natronlauge ohne Spur einer Phenolphthaleinrötung glatt von der gebildeten Säure verbraucht wurden und erst ein Natronlaugeüberschuß über diese Menge eine Phenolphthaleinrötung ergab. Der Farbgrad war dabei derart, als ob wir nur diesen Natronlaugeüberschuß zu 0,08 Millimol Chinolinsäureimid zugesetzt hätten.

Die Bestimmung der Dissoziationsverhältnisse des Chinolinsäureimids ergab also, daß die Basizität seines Pyridinstickstoffs weitgehend oder fast völlig durch die Dicarbonsäureimidgruppe aufgehoben war. Als Säure dagegen wies das Chinolinsäureimid eine Dissoziationskonstante von dem Näherungswert $k_s = 5 \cdot 10^{-9}$ auf; dabei zeigte sich, daß die Chinolinsäureimidanionen in durchschnittlich 5 Minuten zur Hälfte in die Anionen einer sehr viel stärkeren Säure irreversibel zerfallen. Daraus geht hervor, daß das Chinolinsäureimid nur in stärker saurem $[H^+]$-Bereich sich länger hält, während es bei neutraler und noch mehr bei alkalischer Pufferung relativ schnell zerfällt.

Da das Chinolinsäureimid also eine schwache Säure darstellt, haben wir geprüft, ob auch das früher untersuchte Nicotinsäureamid und Picolinsäureamid eine merkliche Säuredissoziationskonstante aufweist. Wir versetzten somit 4 ccm der 2%igen Lösung dieser beiden Stoffe ebenfalls mit $^1/_5$ bis $^4/_5$ Äquivalenten Natronlauge und untersuchten den Farbgrad von Phenolphthalein und Alizaringelb GG nach Michaelis. Dabei ergab sich, daß nicht nur der Farbgrad des Phenolphthaleins, sondern auch der des Alizaringelbs (mit der Dissoziationskonstanten von etwa $7 \cdot 10^{-12}$) praktisch 1 betrug. Eine merkliche Abblassung, die auf eine schnelle Zersetzung schließen ließ, trat auch nach einem Tage nicht ein. Die Säuredissoziationskonstanten dieser beiden Amide waren also sicher kleiner als $7 \cdot 10^{-12}$. Am Pyridinring hat also die einfache Carbamidgruppe eine sicher 100mal so kleine Säuredissoziationskonstante als die Dicarbonsäureamidgruppe.

Aus den ermittelten Dissoziationsverhältnissen des Chinolinsäureimids geht hervor, daß wir mit Rücksicht auf das Chinolinsäureimid von etwa $[H^+] = 10^{-8}$ bis ins weit saure Gebiet hinein alle Puffer benutzen können, ohne die Phenolbasenreaktionsfähigkeit des Chinolinsäureimids bei einfachen Molekülverbindungen zu beeinträchtigen. Aus diesem Grunde haben wir die Reaktionsfähigkeit aller schwach dissoziierenden Phenole auf das Chinolinsäureimid ohne Zusatz von Pufferlösungen untersucht; nur bei den stärker dissoziierenden Mononitrophenolen haben wir 1 ccm Phosphatpuffer $[H^+] = 1 \cdot 10^{-7}$ zugegeben, um deren Dissoziation möglichst zurückzudrängen; bei den leichter oxydierbaren Aminophenolen, deren Oxydation wir durch Sulfitzusatz verhindern wollten, brauchten wir die Phosphatpuffer nur, um den Sulfitschutz wirksam zu machen.

I C. Pufferlösungen.

Als Pufferlösungen verwendeten wir erstens den Phosphatpuffer $[H^+] = 1 \cdot 10^{-7}$, bestehend aus 50 ccm 1 mol. KH_2PO_4 nach Soerensen + 200 ccm $^1/_4$ mol. Na_2HPO_4 ebenfalls nach Soerensen; ferner benutzten wir den Phosphatpuffer $[H^+] = 4 \cdot 10^{-7}$ gemischt aus 100 ccm 1 mol. KH_2PO_4 + 100 ccm $^1/_4$ mol. Na_2HPO_4, für besondere Zwecke kam auch noch der Acetatpuffer $[H^+] = 2 \cdot 10^{-5}$ in Frage, der aus gleichen Volumenteilen 1 mol. Essigsäure und 1 mol. Natriumacetat bestand.

I D. Phenolausgangslösungen.

Bis auf das außerordentlich stark lösliche Resorcin und Brenzkatechin, die in der Höchstkonzentration von $^2/_1$ mol. verwendet wurden, wurden die Höchstkonzentrationen der übrigen schwerer löslichen Phenole so gewählt, daß sie der Wasserlöslichkeitsgrenze nahe lagen. Es handelt sich also um dieselben Ausgangskonzentrationen, wie sie in den Arbeiten von Labes[1] sowie Bergstermann, Nöcker und Krauskopf[2] beschrieben sind. Man kann die Höchstkonzentrationen der Phenolausgangslösungen auch aus den Daten der Chinolinsäureimiduntersuchungen größtenteils entnehmen.

Etwas Genaueres ist noch über die Aminophenole zu sagen, da sie in der Arbeit von Labes[1] nur kurz in einer Randbemerkung erwähnt sind. Das Paraaminophenol ist nur zu 0,6% wasserlöslich; in wässeriger Ausgangslösung ist es aber für irgendwelche Basenfällungsreaktionen ungeeignet, da es sich zu schnell unter Braunfärbung oxydiert, und nach einiger Zeit das Oxydationsprodukt in bräunlichen Flocken ausfällt. Wenn wir der Paraaminophenollösung nur

Natriumsulfit zusetzten, um durch das Sulfit den von der Luft in die Lösung eindringenden Sauerstoff zu binden, so gelang dies nicht. Wir mußten außer dem Sulfitzusatz noch Phosphatpuffer zusetzen, um aus dem Na_2SO_3 teilweise $NaHSO_3$ oder gar H_2SO_3 zu bilden, welches anscheinend die Aminophenole besser vor dem Sauerstoff schützt. In unseren früheren Versuchen hatten wir daher folgendes Phosphatsulfitgemisch $[H^+] = 4 \cdot 10^{-7}$ als Lösungsmittel für die Aminophenole verwendet, das aus 10 ccm Phosphatpuffer $[H^+] = 4 \cdot 10^{-7} + 10$ ccm 4%iger Na_2SO_3, $7\,H_2O + 80$ ccm Aqua dest. bestand. Die Lösung von 0,6 g Paraaminophenol in 100 ccm dieses Phosphatsulfitgemisches bezeichneten wir zum Unterschied von der einfachen 0,6%igen wässerigen Paraaminophenollösung als 0,6%iges Paraaminophenolgemisch $[H^+] = 4 \cdot 10^{-7}$. Da uns diese Lösung für manche Zwecke zu sauer reagierte, benutzten wir als Lösungsmittel für die Aminophenole noch ein zweites „Phosphatsulfitgemisch" $[H^+] = 1 \cdot 10^{-7}$. Dieses enthielt in einem Gesamtvolumen von 100 ccm statt des Phosphatpuffers $[H^+] = 4 \cdot 10^{-7}$ 10 ccm Phosphatpuffer $[H^+] = 1 \cdot 10^{-7}$. Eine Lösung von 0,6 g Paraaminophenol in 100 ccm dieses letzteren Gemisches bezeichnen wir naturgemäß mit 0,6%igem Paraaminophenolgemisch $[H^+] = 1 \cdot 10^{-7}$. Auch in diesem Gemisch war das Paraaminophenol, wenn das Gemisch nicht zu stark mit Wasser verdünnt war, ziemlich lange gegen die Oxydation geschützt; wurde 1 ccm dieses Paraaminophenolgemisches mit Wasser auf 10 ccm verdünnt, so blieb die Lösung etwa 1 Tag farblos, erst dann begann die Bräunung von der Luftgrenze her, und nach weiterer Zeit bildeten sich bräunliche Flocken. Wurden 2 ccm dieses Paraaminophenolgemisches mit Wasser auf 10 ccm verdünnt, so hielt der Sulfitschutz bis zur beginnenden Oxydation etwa 2 Tage; waren 4 ccm des Paraaminophenolgemisches mit Wasser auf 10 ccm verdünnt worden, so dauerte der Sulfitschutz im betreffenden Reagensglas etwa 4 Tage usw.

Vom Orthoaminophenol, das nur zu 0,3% in diesen Phosphatsulfitgemischen löslich war, stellten wir ebenfalls 0,3%ige Orthoaminophenolgemische $[H^+] = 4 \cdot 10^{-7}$ bzw. $[H^+] = 1 \cdot 10^{-7}$ her. Die Reaktionen von Para- und Orthoaminophenol mit Chinolinsäureimid bzw. Chinolin prüften wir wegen ihrer leichten Oxydierbarkeit immer nur so, daß wir statt der Vorlage dieser Aminophenole in wässeriger Ausgangslösung die Aminophenolgemische vorlegten.

Bei den entsprechenden Metaaminophenolversuchen gingen wir sowohl von der wässerigen 2- bzw. 3%igen Metaaminophenollösung aus (denn das Metaaminophenol oxydiert nicht so leicht) als auch von der 2- bzw. 3%igen Lösung von Metaaminophenol in den beiden Phosphatsulfitgemischen. Diese Prüfung der Reaktionsfähigkeit des Metaaminophenols bei drei verschiedenen Versuchsanordnungen hat den Zweck, festzustellen, wieweit der Sulfitzusatz bzw. Phosphatpufferzusatz bei verschiedener Wasserstoffionenkonzentration die Reaktionsfähigkeit der Aminophenole auf die Basen beeinflußt. In den früheren Arbeiten war dieser Einfluß nur beim β-Picolin zu prüfen gewesen, vgl. Bergstermann und Mitarbeiter[2]; denn von allen bisher untersuchten Basen war nur das β-Picolin gegenüber dem Metaaminophenol wirksam gewesen. Bei dieser Reaktion auf β-Picolin hatte es sich gezeigt, daß die Metaaminophenolwirkung durch Phosphat- bzw. Sulfitzusatz in ihrem quantitativen Verlauf nicht merklich beeinflußt wurde. Bei wärmerer Versuchstemperatur war das Metaaminophenol sowohl im Wasser als auch in den Phosphatsulfitgemischen etwa 3% löslich, bei kälterer Temperatur fiel eine 3%ige Lösung aus, aus diesem Grunde haben wir in einem späteren Teil der Versuche das Metaaminophenol nur zu 2% im Wasser bzw. in den Gemischen gelöst.

In unseren Versuchen interessierte uns noch die Frage, ob das α-Naphthol bei seiner Reaktionsfähigkeit auf das Chinolin dem β-Naphthol stärker überlegen ist. Legt man nämlich den Naphtholring auf den Chinolinring, so würde beim α-Naphthol das phenolische Hydroxyl in größere Nähe vom Chinolinstickstoff kommen als beim β-Naphthol. Aus diesem Grunde interessierten uns die Naphthole

trotz ihrer schlechten Wasserlöslichkeit. Wir versuchten die Bestimmung ihrer Löslichkeitsgrenze dadurch, daß wir zunächst beide Naphthole durch Zusatz von äquivalenter Natronlauge in die gut löslichen Natriumsalze überführten; dann pipettierten wir fallende Volumenmengen einer $^1/_{80}$ mol. Naphthol-Natriumlösung in eine Reihe von Reagensgläsern, die außerdem je 1 ccm Acetatpuffer $[H^+] = 2 \cdot 10^{-5}$ enthielten und mit Aqua dest. auf das Gesamtvolumen von 10 ccm aufgefüllt waren. Durch den Acetatpuffer wurde aus dem leicht löslichen Naphthol-Natrium das schwerlösliche Naphthol wieder in Freiheit gesetzt, und es kristallisierte in allen Röhrchen, die mehr als 2 ccm $^1/_{80}$ mol. Naphtholnatrium erhalten hatten, das schwerlösliche Naphthol wieder aus. 2 ccm $^1/_{80}$ mol. Naphthol blieb aber im Gesamtvolumen von 10 ccm gelöst, d. h. die Löslichkeit vom Naphthol im Wasser bei Zimmertemperatur beträgt etwa $^1/_{400}$ mol. α- bzw. β-Naphthol. Für unsere Versuche war es aber nicht zweckmäßig, von den Naphthol-Natriumsalzlösungen auszugehen; denn diese oxydierten sich allzu leicht und führten zur Bildung gallertartiger Oxydationsprodukte. Hätten wir für unsere Chinolinversuche nur eine $^1/_{400}$ mol. Naphthollösung als Ausgangslösung vorgelegt und dann die 0,03 mol. Chinolinlösung hinzupipettiert, so wäre dadurch die Naphthollösung zu stark verdünnt worden. Aus diesem Grunde gingen wir bei diesen Naphthol-Chinolinversuchen anders vor.

Als höchste Naphtholvorlage pipettierten wir statt 8 ccm einer kalten $^1/_{400}$ mol. Naphthollösung 3 ccm einer heißen $^1/_{150}$ mol Naphthollösung, die bei Verdünnung auf 10 ccm Gesamtvolumen auch bei Kälte nicht ausfiel. Damit das Naphthol nicht vor der Chinolinzugabe und der Auffüllung auf 10 ccm beim Abkühlen auskristallisierte, gaben wir in die Reagensglasreihe erst die fallenden Mengen der Chinolinlösung, dann das zur Auffüllung auf 10 ccm dienende Wasser und zuletzt die Naphtholvorlage von 3 ccm $^1/_{150}$ mol α- bzw. β-Naphthol. Versuche mit kleineren Naphtholvorlagen führten wir ebenfalls in dieser Reihenfolge durch.

II. Versuchsdaten.

II A. Chinolinversuche.

Die Versuchsdaten der Chinolin-Phenolderivatreaktionen sind in der Abb. 1 niedergelegt, und zwar in derselben Darstellungsweise, wie sie bei Labes[1] näher erläutert wurde. Von den Kurven $G_{Ph\,I}$, $G_{Ph\,II}$ und $G_{Ph\,III}$ der nicht zu reagierenden Phenolderivate haben wir nur die eingetragen, die am meisten über die Reaktionsfähigkeit derselben aussagen. Kristalline Reaktionsprodukte mit dem Chinolin liefern die drei Dioxyphenole, das Para- und Metanitrophenol, das α- und β-Naphthol sowie das Salicylsäureamid*. Alle Reaktionsprodukte zwischen dem Chinolin und den übrigen Phenolderivaten haben den Charakter einer öligen Flüssigkeit und machen sich bei den G_N der Reaktionsgrenze als Opaleszenz bemerkbar. Um die Chinolinreaktionsfähigkeit mit der Reaktionsfähigkeit des stärkst wirksamen Pyridinderivates Collidin vergleichen zu können, haben wir auf Grund der Reaktionsdaten in den Inauguraldissertationen Kleucker und Schnicke, Jena 1938, die in der Arbeit von Bergstermann und Mitarbeiter[2] niedergelegt sind, eine entsprechende Abbildung beigefügt.

Zu der Collidinabbildung sei bemerkt, daß außer Ortho- und Paraaminophenol, den Nitrophenolen und dem Trichlorphenol alle Phenolreaktionen sowohl ohne Puffer angesetzt wurden, als auch mit Zusatz von 1 ccm Phosphatpuffer

* Die Resorcin- und Brenzkatechinkurven beginnen links gemeinsam und enden rechts gemeinsam (dicht rechts unter dem rechten Endpunkt der Kurve vom Resorcinmonomethyläther). In dem mittleren Teil verlaufen die punktierte Brenzkatechinkurve und die gestrichelte Resorcinkurve getrennt.

$[H^+] = 1 \cdot 10^{-7}$ wiederholt wurden. Ohne Phosphatpuffer wurde eine beinahe gesättigte 1%ige Lösung der Collidinbase verwendet, die bei der resultierenden leicht alkalischen Reaktion praktisch undissoziiert blieb, so daß G_N und $D_{N_Q} \cdot G_N$ sich deckten. Bei einer $[H^+] = 1 \cdot 10^{-7}$ bleibt aber nur $D_{N_Q} = {}^1/_4$ des Gesamtcollidins undissoziiert, während ${}^3/_4$ des Collidins in dissoziierte Salzform übergehen.

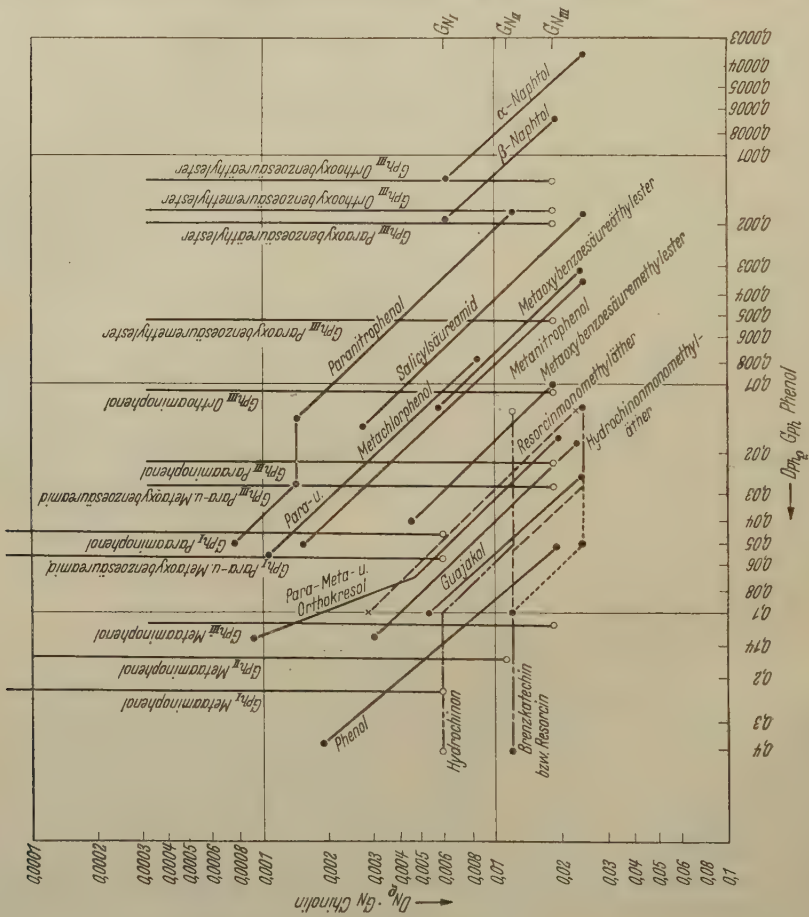


Abb. 1.

Bei den Versuchen, in denen wir 1 ccm Phosphatpuffer $[H^+] = 1 \cdot 10^{-7}$ zugaben, benutzten wir dementsprechend nicht eine 1%ige Lösung der Collidinbase, sondern eine 4%ige Collidin-HCl-Lösung $[H^+] = 1 \cdot 10^{-7}$, in der 3% durch Salzsäurezusatz in die Salzform überführt waren und nur 1% als undissoziiertes Collidin vorlag. Diese 4%ige Collidin-HCl-Lösung lieferte also ein viermal so großes G_N aber nur eine gleich große $D_{N_Q} \cdot G_N$ bzw. gleich große Wirksamkeit des Collidins auf die Phenole wie die 1%ige Collidinbasenlösung ohne Pufferzusatz.

Bei den Versuchen mit den Nitrophenolen und dem ${}^1/_{40}$ mol. Trichlorphenolnatrium, bei dem wir die Vorlagemenge von 3 ccm nicht überschritten, benutzten

wir 1 ccm Zusatz von Phosphatpuffer $[H^+] = 1 \cdot 10^{-7}$ und die 4%ige Collidin-HCl-Lösung; dabei war in Rechnung zu ziehen, daß das Trichlorphenol hier den Dissoziationsrest $D_{Ph_Q} = 0{,}09$ und das Paranitrophenol den Wert $D_{Ph_Q} = 0{,}6$ aufwies. Die Metanitrophenolkurve ist nicht eingezeichnet, da sie mit der Meta- und Parachlorphenolkurve etwa zusammenfällt. Bei den Versuchen mit dem 0,6-

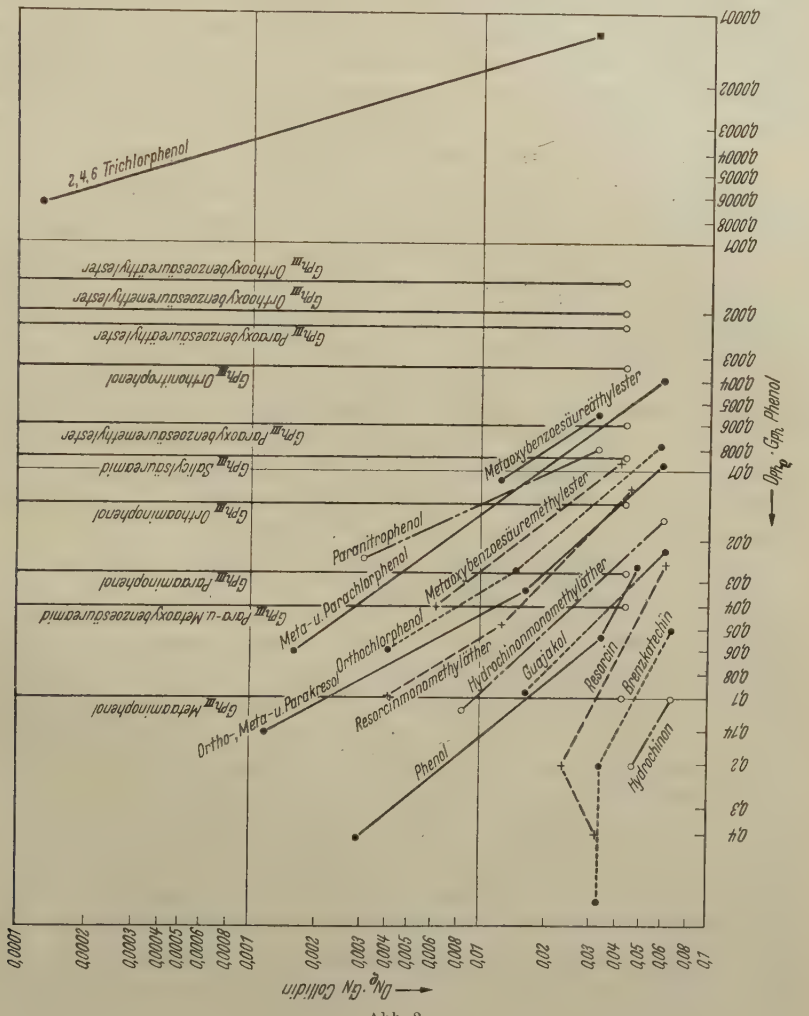


Abb. 2.

bzw. 0,3%igen Para- bzw. Orthoaminophenolgemisch $[H^+] = 1 \cdot 10^{-7}$ setzten wir keinen Puffer zu, verwendeten aber die 4%ige Collidin-HCl-Lösung. Das Collidin lieferte nur mit dem Trichlorphenol ein kristallines Reaktionsprodukt, bei allen anderen wirksamen Phenolderivaten bildete sich als Reaktionsprodukt eine ölige Phase.

Beim Vergleich des Chinolins und des Collidins fällt auf, daß beim Chinolin die Steilheit der Kurven viel häufiger das Verhältnis 1:1

aufweist, das für eine Bindung von nur $n_{Ph} = 1$ Phenolmolekül an $n_N = 1$ Chinolinmolekül spricht. Beim Collidin traten gerade besonders bei den hohen Phenolkonzentrationen häufig steilere Kurvenäste auf, die dafür sprachen, daß in diesen hohen Phenolkonzentrationsbereichen 2 Moleküle Phenol an 1 Molekül Collidin gebunden wurden. Bei niederen Phenolkonzentrationen dagegen waren die Collidinkurven teilweise flacher entsprechend der Bindung von 1 Phenolmolekül an 1 Collidinmolekül. Die Trichlorphenol-Collidinkurvensteilheit spricht für die Bindung von 3 Trichlorphenolmolekülen an 1 Collidinmolekül. In der Chinolinabbildung fällt weiter auf, daß die Dioxyphenolkurven ein längeres Stück horizontal verlaufen; dies spricht dafür, daß die Dioxyphenole mit dem Chinolin ein Reaktionsprodukt von ziemlich hoher molarer Löslichkeit λ aufweisen, wie dies Labes[3] bereits früher für die Chinolin-Resorcinverbindung ausgerechnet hat. Wegen dieser hohen Löslichkeit der Reaktionsprodukte liegen die linken Äste der Dioxyphenolkurven trotz hoher Reaktionsfähigkeit links unter der Phenolkurve, die rechten Äste der Dioxyphenolkurven liegen aber teilweise (z. B. beim Hydrochinon) sogar rechts oberhalb des Metaoxybenzoesäuremethylesters. Berücksichtigt man die hohe Wasserlöslichkeit der Reaktionsprodukte, so kommt man zu dem Schluß, daß die Reaktionsaffinität der Dioxyphenole gegenüber dem Chinolin noch weit stärker den einfacheren Phenolderivaten überlegen ist, als es in diesen Abbildungen zum Ausdruck kommt.

Wir sehen also bei der Reaktion der Dioxyphenole mit Chinolin etwas Neues: Während bei den Pyridinderivaten mit restvalenzarmen Substituenten die Dioxyphenole schwächer wirksam waren als das Phenol, sehen wir beim Chinolin ebenso wie früher beim Picolinsäureamid mit seiner restvalenzreichen Carbamidgruppe eine Überlegenheit der Dioxyphenole gegenüber dem Phenol, welche an eine spezifische Wechselwirkung denken läßt. Ob bei dieser Bedeutung des zweiten an das Pyridin angegliederten Ringes die hinzugekommenen Doppelbindungen eine Rolle für die spezifische Wechselwirkung zwischen Chinolin und dem phenolischen Hydroxyl spielt, steht noch dahin. Es soll in dieser Richtung das α-Propenyl-Pyridin hergestellt und auf seine Wirksamkeit gegenüber den Phenolen untersucht werden. Pharmakologisch bemerkenswert bei dieser Wechselwirkung zwischen dem Chinolin und den Dioxyphenolen erscheint vielleicht, daß das ebenfalls ein Chinolinderivat darstellende Chinin die pharmakologische Wirkung des Adrenalins (eines Brenzkatechinderivates) abschwächen kann.

Eine weitere spezifische Wechselwirkung scheint bei der Reaktion zwischen Chinolin und Salicylsäureamid aufzutreten; denn das allen bisher untersuchten Pyridinderivaten gegenüber unwirksame Salicylamid

[3] Labes u. Breitenstein: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **175**, 372 (1934).

ist dem Chinolin gegenüber wirksamer als die Chlorphenole *. Die Überlegenheit des α-Naphthols über das β-Naphthol ist nicht derart groß, als daß man daraus bestimmte Schlüsse im Sinne der eingangs (S. 608 unten) erwähnten Frage ziehen könnte.

Vergleicht man die Reaktionsfähigkeit der übrigen Phenolderivate mit weniger restvalenzreichen Substituenten, so sieht man, daß das Chinolin, welches dem Collidin um einen Kohlenstoff überlegen ist, auch in seiner Reaktionsfähigkeit etwas über dem Collidin steht.

II B. Chinolinsäureimidversuche.

Mit Ausnahme der später zu besprechenden Aminophenole waren sämtliche Phenolderivate gegenüber dem Chinolinsäureimid unwirksam. Um die optimalen Konzentrationsverhältnisse zu kennzeichnen, bei denen wir untersuchten, geben wir die höchste Vorlagekonzentration $G_{\mathrm{Ph\,I}}$, die zweithöchste Konzentration $G_{\mathrm{Ph\,II}}$ und die dritthöchste Vorlagekonzentration $G_{\mathrm{Ph\,III}}$ der betreffenden Phenolderivate wieder, und außerdem die höchsten Zugabekonzentrationen $G_{\mathrm{N\,I}}$, $G_{\mathrm{N\,II}}$ und $G_{\mathrm{N\,III}}$ des Chinolinsäureimids, die wir bei den entsprechenden Vorlagekonzentrationen des Phenols verwendeten.

Von den nachfolgenden Phenolausgangslösungen legten wir die Volumina von 5, 7 und 2 ccm vor und erzielten damit die unten angegebenen G_{Ph}-Werte. Bei diesen Vorlagewerten von G_{Ph} der tabellarischen Zusammenstellung (s. S. 614 oben) waren auch die höchsten Volumenzugaben von 0,3%igem Chinolinsäureimid mit $G_{\mathrm{N\,I}} = 6{,}0 \cdot 10^{-3}$ $G_{\mathrm{N\,II}} = 1{,}0 \cdot 10^{-2}$ und $G_{\mathrm{N\,III}} = 1{,}6 \cdot 10^{-2}$ wirkungslos.

Auch gegenüber den Vorlagen von 2 ccm, 1 ccm und 0,5 ccm von 2 mol. Resorcin sowie Brenzkatechin mit den Konzentrationen $G_{\mathrm{Ph\,I}} = 4{,}0 \cdot 10^{-1}$, $G_{\mathrm{Ph\,II}} = 2{,}0 \cdot 10^{-1}$ und $G_{\mathrm{Ph\,III}} = 1 \cdot 10^{-1}$ waren die Chinilinsäureimidhöchstwerte $G_{\mathrm{N\,I}}$ bis $G_{\mathrm{N\,III}} = 1{,}6 \cdot 10^{-2}$ bis $1{,}9 \cdot 10^{-2}$ unwirksam. Desgleichen wirkten die Vorlagemengen von 3 ccm, 2 ccm und 1 ccm heiß einpippetiertem 0,96%igem $= {}^1/_{150}$ mol. α- und β-Naphtol entsprechend den Werten $G_{\mathrm{Ph\,I}} = 2 \cdot 10^{-3}$, $G_{\mathrm{Ph\,II}} = 1{,}3 \cdot 10^{-3}$ und $G_{\mathrm{Ph\,III}} = 6{,}6 \cdot 10^{-4}$ nicht auf das Chinolinsäureimid, auch wenn wir die G_{N}-Werte auf $G_{\mathrm{N\,I}} = 1{,}4 \cdot 10^{-2}$ bis $G_{\mathrm{N\,III}} = 1{,}8 \cdot 10^{-2}$ steigerten.

Die oben aufgezählten Phenolderivate waren sämtlich ohne Pufferzusatz verwendet worden. Bei den Nitrophenolen dagegen wurde überall 0,5 ccm Acetatpuffer $[H^+] = 1 \cdot 10^{-6}$ zugegeben. Sie waren sämtlich wirkungslos gegenüber dem Chinolinsäureimid. Dabei handelte es sich beim 1%igen = 0,07 mol. Meta- und Paranitrophenol um die Werte $G_{\mathrm{Ph\,I}} = 5{,}0 \cdot 10^{-2}$, $G_{\mathrm{Ph\,II}} = 3{,}6 \cdot 10^{-2}$, $G_{\mathrm{Ph\,III}} = 1{,}4 \cdot 10^{-2}$, beim ${}^1/_8{}^0/_0$igen $= 9 \cdot 10^{-3}$ mol. Orthonitrophenol um $G_{\mathrm{Ph\,I}} = 6{,}0 \cdot 10^{-3}$, $G_{\mathrm{Ph\,II}} = 4{,}4 \cdot 10^{-3}$, $G_{\mathrm{Ph\,III}} = 1{,}8 \cdot 10^{-3}$. Die entsprechenden Zugabewerte vom Chinolinsäureimid betrugen $G_{\mathrm{N\,I}} = 5 \cdot 10^{-3}$, $G_{\mathrm{N\,II}} = 9{,}0 \cdot 10^{-3}$, $G_{\mathrm{N\,III}} = 1{,}5 \cdot 10^{-2}$.

* Ob sich hier die restvalenzreiche Carbamidgruppe des Salicylsäureamids mit den Doppelbindungen des an das Pyridin angegliederten zweiten Ringes in Wechselwirkung setzt, oder ob bei Chinolin die Möglichkeit günstiger als bei anderen Pyridinderivaten liegt, daß die leicht saure Carbamidgruppe mit dem Ringstickstoff in Reaktion tritt, steht dahin. In letzterem Falle wäre vielleicht bei genügender Azidität der Carbamidgruppe das phenolische Hydroxyl des Oxybenzoesäureamides überflüssig, und man könnte bei dem Zusammengeben von Chinolin mit Benzoesäureamid, Chlorbenzoesäureamid, Phthalsäureimid oder Chinolinsäureimid eine positive Reaktion erwarten.

Phenolvolumina:	7 ccm	5 ccm	2 ccm
	$G_{\text{Ph I}}$	$G_{\text{Ph II}}$	$G_{\text{Ph III}}$
5% = 0,53 mol. Phenol	$3{,}71 \cdot 10^{-1}$	$2{,}65 \cdot 10^{-1}$	$1{,}06 \cdot 10^{-1}$
0,5 „ Hydrochinon	$3{,}5 \cdot 10^{-1}$	$2{,}5 \cdot 10^{-1}$	$1{,}0 \cdot 10^{-1}$
2% = 0,19 „ o, m, p-Kresol	$1{,}33 \cdot 10^{-1}$	$9{,}5 \cdot 10^{-2}$	$3{,}8 \cdot 10^{-2}$
$1\% = 0{,}8 \cdot 10^{-1}$ mol. o, m, p-Chlorphenol	$5{,}4 \cdot 10^{-2}$	$3{,}9 \cdot 10^{-2}$	$1{,}5 \cdot 10^{-2}$
1,5% = 0,12 mol. Guajakol und Resorcinmonomethyläther	$8{,}4 \cdot 10^{-2}$	$6{,}0 \cdot 10^{-2}$	$2{,}4 \cdot 10^{-2}$
2% = 0,16 mol. Hydrochinonmonomethyläther	$1{,}1 \cdot 10^{-1}$	$8{,}0 \cdot 10^{-2}$	$3{,}2 \cdot 10^{-2}$
$0{,}75\% = 0{,}5 \cdot 10^{-1}$ mol. Metaoxybenzoesäuremethylester	$3{,}4 \cdot 10^{-2}$	$2{,}5 \cdot 10^{-2}$	$9{,}8 \cdot 10^{-3}$
$0{,}7‰ = 0{,}45 \cdot 10^{-2}$ mol. Methylium salicylicum	$3{,}2 \cdot 10^{-3}$	$2{,}3 \cdot 10^{-3}$	$9{,}0 \cdot 10^{-4}$
$0{,}2\% = 0{,}13 \cdot 10^{-1}$ mol. Paraoxybenzoesäuremethylester	$9{,}1 \cdot 10^{-3}$	$6{,}5 \cdot 10^{-3}$	$2{,}6 \cdot 10^{-3}$
$0{,}084\% = 0{,}50 \cdot 10^{-2}$ mol. Paraoxybenzoesäureäthylester	$3{,}5 \cdot 10^{-3}$	$2{,}5 \cdot 10^{-3}$	$1{,}0 \cdot 10^{-3}$
$0{,}25\% = 0{,}15 \cdot 10^{-1}$ mol. Metaoxybenzoesäureäthylester	$1{,}1 \cdot 10^{-2}$	$7{,}5 \cdot 10^{-3}$	$3{,}0 \cdot 10^{-3}$
$1\% = 0{,}73 \cdot 10^{-1}$ mol. Meta- und Paraoxybenzoesäureamid	$5{,}0 \cdot 10^{-2}$	$3{,}6 \cdot 10^{-2}$	$1{,}4 \cdot 10^{-2}$
$0{,}25\% = 0{,}18 \cdot 10^{-1}$ mol. Orthooxybenzoesäureamid	$1{,}3 \cdot 10^{-2}$	$9{,}0 \cdot 10^{-3}$	$3{,}6 \cdot 10^{-3}$

(Diese tabellarische Zusammenstellung bezieht sich auf S. 613, Absatz 4.)

Bei der Wechselwirkung zwischen Paraaminophenol und Chinolinsäureimid dagegen erhielten wir als Reaktionsprodukt schöne büschelförmige, praktisch farblose Kristalle. Wir geben die Kristallisationsgrenzen beifolgend wieder:

$0{,}6\% = 5{,}5 \cdot 10^{-2}$ mol. Paraaminophenolgemisch $[H^+] = 1 \cdot 10^{-7}$	8 ccm	4 ccm	2 ccm	1 ccm
0,6%iges Paraaminophenolgemisch $[H^+] = 1 \cdot 10^{-7}$ G_{Ph} mol.	$4{,}4 \cdot 10^{-2}$	$2{,}2 \cdot 10^{-2}$	$1{,}1 \cdot 10^{-2}$	$5{,}5 \cdot 10^{-3}$
$0{,}3\% = 2 \cdot 10^{-2}$ mol. Chinolinsäureimid	0,5 ccm	1 ccm	4 ccm	∞
0,3%iges Chinolinsäureimid G_{N} mol.	$1{,}0 \cdot 10^{-3}$	$2{,}0 \cdot 10^{-3}$	$8{,}0 \cdot 10^{-3}$	∞

Beim Zusammengeben des farblosen Paraaminophenolgemisches mit der Chinolinsäureimidlösung trat sofort eine gelbgrüne Verfärbung auf, die nachher beim Ausfallen des kristallinen Reaktionsproduktes wieder verschwand. Diese gelbgrüne Farbe scheint, soweit sich aus den Farbintensitätsverhältnissen bei Variationen von G_{N} und G_{Ph} ersehen läßt, von einer primären Molekülverbindung zwischen 1 Molekül Chinolinsäureamid und 1 Molekül Paraaminophenol herzustammen. Sie verschwindet reversibel sowohl beim Ansäuern als auch beim Alkalisieren. Im Gegensatz zu diesem gelblöslichen Reaktionsprodukt scheint das kristallin ausfallende Reaktionsprodukt keine reversible Molekülverbindung darzustellen; denn die Kristalle lösen sich weder in HCl noch in schwacher Natronlauge.

Im Gegensatz zum Paraaminophenol gab das 0,3%ige Orthoaminophenolgemisch $[H^+] = 1 \cdot 10^{-7}$ bei $G_{Ph\,I} = 2{,}2 \cdot 10^{-2}$, $G_{Ph\,II} = 1{,}7 \cdot 10^{-2}$ und $G_{Ph\,III} = 1{,}1 \cdot 10^{-2}$ bis zu den Höchstkonzentrationen von Chinolinsäureimid $G_{N\,I} = 4 \cdot 10^{-3}$, $G_{N\,II} = 8 \cdot 10^{-3}$ und $G_{N\,III} = 1{,}2 \cdot 10^{-2}$ keinerlei sichtbare Reaktion. Eine eventuell auftretende lösliche, gelbe Molekülverbindung hätten wir nicht erkennen können, da das Orthoaminophenolgemisch selbst etwas gelb gefärbt war. Kristallbildung jedenfalls blieb vollkommen aus, und die Lösungsgemische blieben klar.

Das Metaaminophenol dagegen war wieder reaktionsfähig gegenüber dem Chinolinsäureimid und führte zu kristallinen Reaktionsprodukten, deren Reaktionengrenzen wir beifolgend angeben:

2% = 0,18 mol. Metaaminophenolgemisch $[H^+] = 1 \cdot 10^{-7}$ G_{Ph} mol. ...	$1{,}4 \cdot 10^{-1}$	$7{,}2 \cdot 10^{-2}$	$3{,}6 \cdot 10^{-2}$	$1{,}8 \cdot 10^{-2}$
0,3% = $2 \cdot 10^{-2}$ mol. Chinolinsäureimid G_N mol.	$2{,}0 \cdot 10^{-3}$	$4{,}0 \cdot 10^{-3}$	$8{,}0 \cdot 10^{-3}$	∞

2% = 0,18 mol. Metaaminophenolgemisch $[H^+] = 4 \cdot 10^{-7}$ G_{Ph} mol. ...	$1{,}4 \cdot 10^{-1}$	$7{,}2 \cdot 10^{-2}$	$3{,}6 \cdot 10^{-2}$	$1{,}8 \cdot 10^{-2}$
0,3% = $2 \cdot 10^{-2}$ mol. Chinolinsäureimid G_N mol.	$2{,}0 \cdot 10^{-3}$	$4{,}0 \cdot 10^{-3}$	$8{,}0 \cdot 10^{-3}$	∞

2% = 0,18 mol. Metaaminophenol G_{Ph} mol.	$1{,}4 \cdot 10^{-1}$	$7{,}2 \cdot 10^{-2}$	$3{,}6 \cdot 10^{-2}$
0,3% = $2 \cdot 10^{-2}$ mol. Chinolinsäureimid G_N mol.	$4{,}0 \cdot 10^{-3}$	$8{,}0 \cdot 10^{-3}$	∞

Auch hier beim Mischen der farblosen Chinolinsäureimidlösung mit jeder der drei Metaaminophenolausgangslösungen trat wieder die gelbe Farbe auf, die beim Auskristallisieren des Reaktionsproduktes verschwindet und nach ihrer Farbqualität auf eine Molekülverbindung von 1 Molekül Chinolinsäureimid mit 1 Molekül Metaaminophenol hinweist. Das kristalline Reaktionsprodukt dagegen scheint keine Molekülverbindung darzustellen. Die Tatsache, daß das Metaaminophenol auch ohne Sulfit- und Phosphatgegenwart mit dem Chinolinsäureimid farblose büschelförmige Kristalle liefert, zeigt, daß weder Sulfit noch der Phosphatpuffer direkt in die Reaktion eingreift. Pufferung mit Phosphat scheint die Kristallbildung desto mehr zu beschleunigen, je alkalischer das Reaktionsmilieu ist. Auch dies spricht dafür, daß das kristalline Produkt nicht eine einfache Molekülverbindung zwischen undissoziiertem Chinolinsäureimid und undissoziiertem Metaaminophenol darstellt. Bei dem ganzen Vorgang scheint die Sprengung des Dicarbonsäureimidringes eine maßgebende Rolle zu spielen.

Da die Aminogruppe in den Aminophenolen einen leicht basischen Faktor darstellt, haben wir zunächst untersucht, ob das Chinolinsäureimid als schwache Säure gegenüber basischen Pyridinderivaten wirksam ist, und mischten die 0,3%ige Chinolinsäureimidlösung in verschiedensten Volumenverhältnissen mit 20%igem Pyridin bzw. α- und β-Picolin und deren stärkeren Verdünnungen; aber nirgends beobachteten wir eine Gelbfärbung oder bzw. nachfolgende Kristallisation.

Von den drei Aminopyridinen gab das 3-Aminopyridin zunächst charakteristische Gelbfärbung und dann schöne weiße Kristalle mit dem Chinolinsäureimid. Letztere lösten sich übrigens in HCl recht gut, wahrscheinlich wegen der Basizität des Pyridinstickstoffs. Ferner gab das zu 3% wasserlösliche Anilin mit dem Chinolinsäureimid zunächst Gelbfärbung und dann schöne büschelförmige Kristalle, die sich aber weder in HCl noch in verdünnter Natronlauge lösten. Dagegen lösten sich die Kristalle in Äthylalkohol sehr gut und fielen erst nach Wasserzusatz wieder aus.

Es scheint, daß bei der Reaktion mit Chinolinsäureimid ebenso wie beim Anilin auch bei den Aminophenolen die Aminogruppe die Hauptrolle spielt. Bei Anilin geht die Kristallisationsbildung herunter bis zu einer Chinolinsäureimidgesamtkonzentration von $2 \cdot 10^{-4}$ mol. und es bieten sich bei dem leichter zu behandelnden Anilin bessere Handhaben, den Reaktionsmechanismus aufzuklären als bei den Aminophenolen. Die Aminogruppe braucht zu ihrer kristallinen Reaktion mit dem Chinolinsäureimid nicht direkt am Benzol- oder Pyridinring zu sitzen, denn auch das Benzylamin gibt mit dem Chinolinsäureimid sehr schöne Kristalle, nur bleibt zum mindesten bei der sehr stark alkalischen Reaktion des Benzylamins die primäre Gelbfärbung aus. Es sind Anhaltspunkte vorhanden, daß auch biogene Amine zu derartigen Reaktionen mit Chinolinsäureimid und ähnlichen Dicarbonsäurederivaten neigen. Es läßt sich aber noch nicht übersehen, ob Reaktionen dieser Art bei biologischen Wirkungen von Fiebermitteln der Anilingruppe oder von biogenen Aminen eine Rolle spielen. Für die Bildung kristalliner Reaktionsprodukte scheint es von Bedeutung zu sein, daß die Aminogruppe den Charakter eines primären oder wenigstens sekundären Amins hat. Substituiert man nämlich beide Anilinwasserstoffe durch Alkyle, so erhält man wenigstens bei dem nur 1‰ löslichen Dimethylamin zwar eine Gelbfärbung, aber keine nachfolgende Kristallisationsbildung. Monomethylanilin oder Acetanilid wäre noch zu prüfen.

Scheint also bei der Kristallbildung aus Aminophenolen mit Chinolinsäureimid die Aminogruppe wesentlich zu sein, so ist auf Seiten des Chinolinsäureimids die Dicarbonsäureimidgruppe verantwortlich; denn das Phthalsäureimid gibt ebenfalls mit Anilin, Benzylamin usw. Kristalle (aber ohne vorhergehende Gelbfärbung). Der einfache, nicht oxydierte Pyrrolring dagegen ließ eine Reaktion vermissen (vielleicht auch weil das Pyrrol nur 1‰ wasserlöslich ist). Es ist aber sehr gut möglich, daß die Imide der Bernsteinsäure und der Malleinsäure, die im Hinblick auf die Bedeutung dieser Dicarbonsäuren für die Gewebsatmung (A. v. Szent-Györgyi) interessant sind, derartige Reaktionen geben.

Eine einfache Carbamidgruppe scheint in geeigneter Konstellation lösliche Molekülverbindungen mit derartigen Verbindungen zu geben. Bei Zusammengeben von Nicotinsäureamidlösung mit anilinähnlichen Stoffen sehen wir jedenfalls sofort das Auftreten einer sehr deutlichen und charakteristischen Gelbfärbung und erst sehr viel später nachfolgende Trübung

und Ausfall von Flocken. Bei der späteren Trübung und den ausfallenden Flocken kann es sich wohl um oxydative Zersetzungsprodukte handeln. Bei der sofort auftretenden Gelbfärbung, die übrigens bei Picolinsäureamid zum mindesten viel schwächer ist als bei dem biologisch wichtigen Nicotinsäureamid, handelt es sich wohl bestimmt um eine Molekülverbindung. Das vielleicht biologisch wichtige Studium der Gesetze dieser Additionsaffinität zwischen Aminen und Säureamidgruppen (vielleicht auch der prontosilähnlichen Sulfonamidkörper), die sich im obigen Falle nur durch Farbänderungen verrät, wird möglicherweise eine ganz andere Versuchstechnik erfordern als die Untersuchung leicht sichtbarer Fällungsreaktionen.

Zusammenfassung.

Es werden die Additionsverbindungen zwischen Chinolin und Chinolinsäureimid mit verschiedenen Phenolderivaten untersucht.

Das Chinolin ist bei den Fällungsreaktionen mit den substituierten Phenolen den bisher untersuchten Pyridinderivaten überlegen; es übersteigt auch die Wirksamkeit des Collidins entsprechend etwa seinem Mehrgehalt von einem hydrophoben Kohlenstoffatom. Die Wirksamkeitsreihenfolge der Phenolsubstituenten auf die Fällungsreaktion mit Chinolin ist annähernd die gleiche wie bei der Reaktion mit Pyridin, den Methylpyridinen und den Pyridincarbonsäureäthylestern, entspricht also bei restvalenzarmen Substituenten wieder der Hydrophobieregel.

Eine spezifische Wirksamkeitssteigerung gegenüber dem Chinolin zeigen aber die Dioxyphenole und das Salicylsäureamid. Die restvalenzreichen Hydroxyl- und Carbamidgruppen, deren spezifische Reaktionsfähigkeit schon bei den Picolinsäureamid- und Nicotinsäureamidreaktionen mit restvalenzreichen Phenolsubstitutionsprodukten aufgefallen war, scheint sich also auch bei den Chinolinreaktionen spezifisch zu betätigen. Vielleicht zeigt bei diesen Reaktionen der zweite dem Pyridin angegliederte Ring etwas ungesättigten Charakter.

Das Chinolinsäureamid gibt, abgesehen von den Aminophenolen, mit keinem der untersuchten Phenolderivate eine sichtbare Reaktion. Die Dicarbonsäureimidsubstitution am Pyridinring hemmt also fast alle Phenolreaktionen. Mit dem Para- und Meta-Aminophenol gibt dagegen das Chinolinsäureimid zunächst gut lösliche charakteristisch gelbgefärbte Molekülverbindungen und später schwer lösliche farblose kristalline Produkte. Für Reaktionen dieser Art scheinen eine Reihe von Säureamidgruppen einerseits, von Aminen bestimmter Art andererseits geeignet zu sein.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Hamburg.

Über die Wirkungsweise organischer Nitroverbindungen.

Von

Ed. Keeser.

(Eingegangen am 28. April 1939.)

I.

Die therapeutischen und toxischen Wirkungen organischer Nitroverbindungen werden im wesentlichen darauf zurückgeführt, daß diese Substanzen die Gefäße erweitern (und so Spasmen lösen sowie unter Umständen den Blutdruck senken), ferner darauf, daß sie den Blutfarbstoff in Methämoglobin umwandeln (und so Störungen des Atmungsprozesses sowie Organschädigungen hervorrufen). Bei Menschen, die beruflich dauernd mit diesen Verbindungen in Berührung kommen, werden indessen in der Regel normale Blutdruckwerte gefunden; ferner zeigen die Zahl der Erythrocyten und ihr Gehalt an Hämoglobin keine Abweichungen von der Norm (so daß ein anomal großer Zerfall von Erythrocyten bzw. eine durch Reizwirkung auf das Knochenmark gesteigerte Erythropoese nicht vorzuliegen scheinen). Weiter sind in der Regel weder Methämoglobin noch Innenkörperchen im Blute dieser Menschen nachweisbar.

Menschen, die beruflich dauernd mit organischen Nitroverbindungen in Berührung kommen, klagen häufig über Herzklopfen, Kopfschmerzen, Luftmangel bei Anstrengungen und Nervosität. Bei der von uns vorgenommenen Untersuchung der Belegschaft eines Betriebes, in dem mit organischen Nitroverbindungen gearbeitet wird, fanden sich kein Methämoglobin und keine Innenkörperchen [1], meist Tremor der Hände, Steigerung der Reflexe, Schwitzen, roter Dermographismus, Neutropenie mit relativer Lymphocytose und ein auffallend langsamer Puls, — also Symptome einer gesteigerten Erregbarkeit des vegetativen Nervensystems, besonders einer Vagotonie. Es ist ferner bekannt, daß bei Vergiftungen mit Nitrokörpern eine nervöse Schwäche und Reizbarkeit lange bestehen bleiben [2], sowie daß es latente Vergiftungen gibt, die aus irgendeinem Anlaß (z. B. Alkoholgenuß [3]) manifest werden können. Da diese Beobachtungen und Befunde nicht ohne weiteres durch die bisher bekannten Wirkungen der Nitroverbindungen erklärt werden können, erhebt sich die Frage, welche anderen Funktionen etwa noch durch Nitroverbindungen beeinflußt werden.

[1] Vgl. hierzu Freifeld, H., u. Mitarbeiter: Fol. haemat. (D.) **56**, 333 (1937). — [2] Leschke, E.: Die wichtigsten Vergiftungen. München, J. F. Lehmanns Verlag, 1933, S. 215. — [3] Leschke, E.: Ebenda, S. 219.

Von den erwähnten klinischen Beobachtungen ausgehend wurde daher zunächst geprüft, ob ein Synergismus oder Antagonismus zwischen der Wirkung des Äthylnitrats ($C_2H_5ONO_2$) und anderer organischer Nitro- (oder Nitrit-) Verbindungen sowie vegetativen Giften besteht. Hierbei zeigte sich, daß am isolierten Froschherzen Äthylnitrat 1. die Herzaktion verlangsamte und eine unvollständige Erschlaffung des Herzens bewirkte, 2. die Wirkung von Suprarenin und Sympatol aufhob, 3. die Wirkung von Azetylcholin verstärkte, indem die Kontraktionshöhe des Herzens schneller abnahm und die Verlangsamung der Herztätigkeit stärker war.

Weiter senkte Äthylnitrat bei Katzen den Blutdruck und hob proportional der Größe der verabfolgten Dosis die Wirkung von Adrenalin auf. Bei gleichzeitiger Injektion kleiner Mengen Adrenalin und großer Dosen Äthylnitrat (bzw. Nitrobenzol) erfolgte eine Senkung des Blutdrucks. Die gleichzeitige Injektion von Äthylnitrat oder Nitrobenzol verstärkte die blutdrucksenkende Wirkung von Azetylcholin etwas, jedoch nicht so, daß von einer Addition gesprochen werden kann. — Vorherige Injektion von Ergotamintartrat änderte den Einfluß der Nitroverbindungen auf den Blutdruck nicht.

Am isolierten Darm von Kaninchen bewirkte Äthylnitrat ebenso wie Adrenalin und Sympatol eine Abnahme des Tonus und eine Verkleinerung der peristaltischen Wellen, während Äthylnitrat und Azetylcholin den Tonus des Darms antagonistisch beeinflußten. Generell kann somit von einem Synergismus zwischen Nitroverbindungen und Azetylcholin und einem Antagonismus zwischen ihnen und Suprarenin bzw. Sympatol keineswegs gesprochen werden.

Da nun Suprarenin und Azetylcholin an verschiedenen Stellen des vegetativen Nervensystems wirksam sind, da ferner vegetative Störungen sich nicht im isolierten Bild einer Vago- oder Sympathicotonie äußern und es ferner bekannt ist, daß das vegetative Nervensystem den Stoffwechsel [4], insbesondere den Stoffwechsel der Muskulatur und den Verbrauch an Sauerstoff beeinflußt [5], lag es nahe zu prüfen, ob Nitroverbindungen erst in zweiter Linie das vegetative Nervensystem beeinflussen und primär an einer anderen Stelle angreifen. Es wurde daher weiter der Einfluß dieser Stoffe auf die von Nerven befreite Muskulatur des Blutegels untersucht und hierbei gefunden, daß diese Muskulatur durch Äthylnitrat (sowie durch Amylnitrit) gelähmt wird [6]. Bernheim und Beams [7] erhielten am isolierten Darm sowie am Darm des lebenden Tieres gleichartige Ergebnisse mit Nitriten und vermuteten, daß diese an der Muskulatur angreifen. In weiteren Versuchen fanden wir, daß durch Äthylnitrat

[4] Vgl. Gremels, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **188**, 79 (1938). — [5] Vgl. Müsch, H. J.: Klin. Wschr. **1938**, S. 614. — [6] Vgl. Heffter, A.: Handb. exper. Pharmak. **1**, 850. — [7] Bernheim, F.: Arch. internat. Pharmacodynam. **48**, 91 (1934); Beams, A. J.: Arch. internat. Med. **49**, 276 (1932).

(100 mg%), Natrium- (17 mg%) oder Amylnitrit (2 mg%) die erregende Wirkung von Azetylcholin (7 mg%) sowie von Sympatol (1 : 250) auf die Blutegelmuskulatur aufgehoben wird.

Diese Versuche bestätigten somit die Annahme, daß Nitroverbindungen nicht primär auf das sympathische oder parasympathische Nervensystem wirken, sondern offenbar an einer anderen Stelle angreifen (Stoffwechsel der Muskulatur?). Daher wurde weiter untersucht, wie Nitroverbindungen auf die Gewebsatmung wirken und wie diese Wirkung durch vegetative und andere Gifte beeinflußt wird.

II.

Der Einfluß von Nitroverbindungen auf die Reduktionsprozesse im Muskel wurde in der Weise geprüft, daß ihre Wirkung auf die Reduktion von o-Dinitrobenzol durch Muskulatur untersucht wurde. Diese wurde durch die untersuchten Nitrit- und Nitroverbindungen gehemmt. Es gelang jedoch nicht, eine Substanz zu finden, die die hemmende Wirkung auf diesen Reduktionsvorgang aufhob. Dagegen zeigte sich, daß die Hemmung u. a. verstärkt wurde durch Wasserstoffsuperoxyd (15 mg%).

Im Ablauf der Verbrennungsprozesse im Organismus wird primär Wasserstoff aktiviert [8]. Dieser addiert molekularen Sauerstoff und bildet H—O—O—H. Dieses in höheren Konzentrationen schädliche Peroxyd wird durch Katalase zerstört [9]. Außerdem vergrößert Katalase das Sauerstoffbindungsvermögen des Hämoglobins und wird durch Glutathion aktiviert [10]. So wird es verständlich, daß bei Sauerstoffmangel (z. B. Anämie, schwerem Basedow) es zu einer Vermehrung der Katalase kommt, die vielleicht auch direkt an den Oxydationsprozessen im Organismus beteiligt ist [11], wie ja auch eine Erhöhung der Aktivität der Katalase einen Ausdruck von erhöhtem Gewebsabbau darstellt [12].

Im Verfolg dieser Überlegungen wurde weiter zunächst in vitro der Einfluß von Nitroverbindungen auf Katalase geprüft und hierbei folgendes gefunden: Äthylnitrat wirkte auf Hefe-Katalase nicht; m-Nitrophenol (10 und 20 mg%) sowie Nitrobenzol (100 mg%) hemmten die Aktivität der Katalase, während sie durch Glutathion (10 und 20 mg%), Azetylcholin und Sympatol (25 mg%) deutlich, durch Thionin schwach gefördert wurde. Die hemmende Wirkung des Nitrophenols und Nitrobenzols wurde durch Sympatol antagonistisch beeinflußt. Ebenso wirkte Glutathion auf die Hemmung der Katalase durch m-Nitrophenol. Desgleichen vermochte Pilocarpin, das allein die Aktivität der Katalase nicht beeinflußte, die hemmende Wirkung des Nitrophenols aufzuheben, nicht dagegen die des Nitrobenzols.

Der Tierversuch ergab, daß die intravenöse Injektion von Äthylnitrat bei Kaninchen eine Hemmung der Blutkatalase zur Folge hatte.

[8] Thunberg, T.: Fysiogr. Sällsk. Lund Förk. **7**, 186 (1938). — [9] Knoop, F.: Münch. med. Wschr. **1936**, S. 633. — [10] Kumagai, T.: Tohoku J. exper. Med. **27**, 151, 262 (1935). — [11] Vgl. Dell'Acqua, G., u. U. Musiani: Bull. sci. med. **7**, 395 (1937). — [12] Khaikina, B.: Zit. n. Ber. Physiol. **109**, 138 (1939).

(Erwähnt sei, daß auch nitrose Gase Katalase hemmen sowie Hypotonie, Bradykardie und eine Herz-Gefäßneurose verursachen [13].) Nitroverbindungen verzögern somit u. a. durch Hemmung der Katalase den Abbau des Wasserstoffsuperoxyds, das nun in vermehrter Konzentration im Gewebe vorhanden ist und so giftig wirkt [14]. — Bei Meerschweinchen zeigten Sympatol, Azetylcholin und Pilocarpin bei Vergiftung durch Äthylnitrat keine antagonistische Wirkung, während die Zufuhr von schwefelhaltigen Verbindungen folgendes ergab:

Thioharnstoff und Thiodiglykol zeigten bei Meerschweinchen in Dosen von 30 mg pro Tier keine entgiftende Wirkung; Cystein verstärkte sogar die Giftigkeit der geprüften Nitroverbindungen. Bei der einmaligen Zufuhr großer toxischer Dosen von ihnen zeigte auch Glutathion keine therapeutische Wirksamkeit, wohl dagegen bei der fortgesetzten täglichen Zufuhr eben überschwelliger toxischer Dosen. In diesem Fall erkrankten die mit Glutathion behandelten Tiere weniger schwer als die nicht behandelten. Die beste Wirkung besaß im letztgenannten Fall bei Vergiftung durch Äthylnitrat Thionin, bei dessen Verabfolgung die Tiere im Unterschied von den Kontrolltieren keinerlei Vergiftungserscheinungen aufwiesen, während die Giftigkeit von Dinitrophenol stärker durch Glutathion als durch Thionin antagonistisch beeinflußt wurde.

Da im ganzen das Ergebnis der bisher geschilderten Versuche, die Giftigkeit organischer Nitroverbindungen herabzusetzen, nicht befriedigte, wurde weiter die Wirkungsweise einer Reihe von Stoffen geprüft, von denen ebenfalls bekannt ist, daß sie Katalase zu aktivieren vermögen. Diese Versuche, bei denen Meerschweinchen 100 mg Äthylnitrat pro 100 g Körpergewicht injiziert wurden, zeigten, daß Ferrosulfat [15] (50 mg pro Tier) keine antagonistische Wirkung besaß. Die Verabfolgung von 2 mg Mangansulfat [16] pro Tier verzögerte den Eintritt der Giftwirkung erheblich, milderte jedoch nicht die Schwere der Vergiftung; ebenso wirkte die subcutane Injektion von 50 mg Jodkalium [15].

Nach Injektion von 20 ccm einer 4%igen Lösung von milchsaurem Calcium [17] waren die Tiere zwar ataktisch und benommen, zeigten aber nicht wie die Kontrolltiere Seitenlage und richteten sich aus ihr, wenn sie hineingebracht wurden, spontan wieder auf. Die entgiftende Wirkung des Calcium lacticum beruht anscheinend nicht nur auf einer Aktivierung der Katalase, sondern auch auf der Rolle, die Lactat bei der biologischen Reduktion des Methämoglobins spielt [18]. Nur leichte Vergiftungserschei-

---

[13] Vigdortschik, N. A. u. Mitarbeiter: Zit. nach Jahreskurse für ärztl. Fortbildung 1928, Heft IX, S. 21. — [14] Sollmann, T.: A manual of pharmacology 1932; vgl. auch Rondoni, P.: Hoppe-Seylers Z. **254**, 207 (1938). — [15] Kikuchi, G.: Fukuoka-Ikwadaigaku-Zasshi **23** (1930); Balls, A. K., u. W. S. Hale: J. amer. chem. Soc. **54**, 2133 (1932). — [16] Luigi, P.: Arch. Farmacol. sper. **55**, 123 (1933); Berenstein, F. J.: Fiziol. Z. **19**, 901 (1935). — [17] Jarovoy, A.: Z. eksper. Biol. i. Med. **13**, 72 (1929). — [18] Schapoth, W. S.: Biochimija **3**, 430 (1938).

nungen traten auf, wenn den Tieren vor der Applikation von Äthylnitrat 0,25 mg Ergotamintartrat [19] subcutan verabfolgt wurden. In diesem Fall zeigte sich nur eine geringe Ataxie und Benommenheit. Cholsäure [20] (500 mg pro Tier), die ebenfalls Katalase zu aktivieren vermag, erwies sich als wirkungslos. Sehr gut antagonistisch wirksam war dagegen Hämin (50 mg pro Tier), das mit Wasserstoffsuperoxyd eine spektroskopisch nachweisbare Verbindung bildet, in der das H_2O_2-Molekül aktiviert wird und leicht Sauerstoff abspaltet [21], also die unter dem Einfluß von Nitroverbindungen entstehende Vergiftung durch H_2O_2 aufzuheben vermag.

Da Ergotamintartrat wegen seiner Giftigkeit nicht dauernd verabfolgt werden kann und Hämin nur bei parenteraler Applikation wirksam ist, während es bei peroraler Zufuhr im Darmkanal in unwirksame Verbindungen übergeführt wird, erscheinen diese Befunde zwar theoretisch interessant, aber nicht praktisch verwertbar. Wir prüften daher auch die Wirksamkeit des Vitamins C, von dem ebenfalls bekannt ist, daß es Katalase aktiviert [22]. Hiermit konnte die Giftigkeit von Dinitroglykol sehr gut antagonistisch beeinflußt werden (s. unten).

Klinisch fallen bei der Wirkung von Nitroverbindungen die — von uns ebenfalls häufig beobachteten — Symptome einer Vagotonie auf, die auch beim Röntgenkater auftreten. Germer [23], der die Ursache des Röntgenkaters in dieser Vagotonie erblickt, empfiehlt gegen die Alkaleszenz des Blutes Calcium, gegen den Cholesterinsturz Colsil sowie Hepatrat zur Steigerung der Entgiftungsfähigkeit der Leber. Daß durch Calcium (s. oben) oder durch entsprechende Ernährung (s. später) hervorgerufene Acidose die Schwere der Vergiftung durch Nitroverbindungen in gewissem Umfang antagonistisch zu beeinflussen vermag, konnten wir feststellen, dagegen vermochten wir eine therapeutische Wirksamkeit von Hepatrat ebensowenig zu beobachten wie eine solche von Lecithin-Cholesterin, das in Form des Helpins verabfolgt wurde. Erwähnt sei, daß nach Bellesini [24] Anilinvergiftung durch Verabfolgung von Lecithin und Cholesterin vorbeugend günstig beeinflußt wird.

III.

Bei unseren Versuchen schien uns die Beobachtung wichtig, daß die Tiere bei der chronischen Zufuhr von Nitroverbindungen ihnen gegenüber zunehmend stark empfindlich wurden und schließlich — wie es übrigens auch beim Menschen bekannt ist — in einen Zustand der Überempfindlichkeit kamen. Da bei derartigen Zuständen in toxischen Mengen frei werdendes Histamin eine ursächliche Rolle spielen kann, prüften wir den Einfluß von

[19] Danielson, A. K., u. T. G. Koka: Bull. Biol. et Méd. expér. URSS. **3**, 545 (1937). — [20] Ohashi, K.: Okayama-Igakkai-Zasshi **45**, 926 (1933). — [21] Haurowitz, F.: Enzymologia (Nd.) **2**, 9 (1937). — [22] Gaethgens, G.: Klin. Wschr. **1938**, S. 1389. — [23] Germer, W. D.: Med. Welt **1937**, S. 1642. — [24] Bellesini, C.: Zit. nach Münch. med. Wschr. **1939**, S. 154.

Nitroverbindungen auf das Histamin zerstörende Ferment Histaminase[25] und stellten hierbei fest, daß sie bereits in Konzentrationen von 1—5 mg% die Aktivität dieses Enzyms hemmen und somit eine Entgiftung des Histamins mehr oder weniger verhindern. Dieses Ferment wird übrigens bereits durch geringe Mengen Ergotamin und Jodkalium (s. oben) ebenfalls gehemmt; von anderen Bedenken abgesehen, erschienen uns auch aus diesem Grund die genannten beiden Arzneimittel therapeutisch nicht verwertbar.

Schließlich ist beim Ablauf der Stoffwechselprozesse in unserem Körper wichtig, ob eine saure oder eine alkalische Reaktionslage vorherrscht. Bereits Vorversuche ließen erkennen, daß dieser Umstand auch bei der Wirkungsstärke von Nitroverbindungen eine Rolle spielt. Wurde nämlich Meerschweinchen außer 0,5 ccm Nitrobenzol noch acidotisch wirksames Calcium verabfolgt, so waren die Vergiftungserscheinungen weniger schwer als bei den Kontrolltieren, die sämtlich zugrunde gingen. Systematische Untersuchungen wurden nun in der Weise durchgeführt, daß Meerschweinchen mit Kohl gefüttert wurden und so eine alkalische Reaktionslage erhielten (p_H des Urins = 8,0—9,0), während andere Hafer sowie täglich 1 ccm n/50 HCl bekamen und so acidotisch wurden (p_H des Urins = 5,0 bis 6,0). Wurden den so vorbehandelten Tieren 100 mg Äthylnitrat pro 100 g Tier subcutan injiziert, so traten die Vergiftungserscheinungen bei den acidotischen Tieren erheblich später auf, waren leichter und klangen schneller ab als bei den alkalotischen.

IV.

Abschließend wurde untersucht, durch welche Maßnahmen eine Vergiftung durch Dinitroglykol (Äthylenglykoldinitrat $O_2NOH_2C-CH_2ONO_2$) antagonistisch beeinflußt werden kann. Bereits in Versuchen an Meerschweinchen zeigte sich, daß die subcutane Injektion von Glutathion, Ergotamintartrat und Lecithin-Cholesterin sowie die rectale Verabfolgung von Calcium lacticum den Verlauf der Vergiftung durch Dinitroglykol eher ungünstig beeinflußten, daß dagegen Ascorbinsäure eine gute antagonistische Wirksamkeit zeigte. — Bei Hunden rief die subcutane Injektion von 9 ccm einer 0,4%igen Aufschwemmung von Dinitroglykol in physiologischer Kochsalzlösung pro kg Körpergewicht eine sich im Laufe von Stunden, also auffallend langsam entwickelnde, jedoch schwere Vergiftung hervor, die sich in Ataxie äußerte und langsam abklang (6—7 Tage). Wurden gleich schweren Hunden die vorgenannte Dosis verabfolgt und einigen dieser Tiere unmittelbar vorher sowie $^1/_4$ und 3—4 Stunden nachher im ganzen etwa 800 mg Ascorbinsäure subcutan injiziert, so waren bei den in der genannten Weise behandelten Tieren im Gegensatz zu den Kontrolltieren keinerlei Vergiftungserscheinungen festzustellen.

---

[25] Keeser, Ed.: Dtsch. med. Wschr. **1939**, S. 94.

Um Fehlschlüsse zu vermeiden, die durch die unterschiedliche individuelle Empfindlichkeit der Tiere bedingt werden können, wurde weiter Hunden, die eine Vergiftung durch Dinitroglykol überstanden hatten, nach ihrer Wiederherstellung dieselbe Dosis, jedoch zusammen mit Ascorbinsäure verabfolgt und gefunden, daß nunmehr keine Vergiftungserscheinungen auftraten.

Glutathion, Ergotamintartrat, Lecithin-Cholesterin, Hämin sowie Calcium lacticum beeinflußten den Verlauf der Vergiftung eher ungünstig. Daraus, daß ein Arzneimittel sich bei der Vergiftung durch eine Nitroverbindung als günstig erwiesen hat, kann also nicht geschlossen werden, daß es sich auch bei anderen Nitroverbindungen bewährt.

Zusammenfassung.

1. Die vorstehend geschilderten Untersuchungen sprechen somit dafür, daß Nitroverbindungen primär nicht unter anderem auf das vegetative Nervensystem wirken und so die bekannten Symptome einer vegetativen Übererregbarkeit hervorrufen, sondern daß sie den Stoffwechsel beeinflussen.

2. Die geprüften Nitroverbindungen hemmten die Reduktionsprozesse im Muskel sowie die Aktivität der Katalase.

3. Die hemmende Wirksamkeit von Nitrobenzol und Nitrophenol auf Katalase konnte in vitro durch Sympatol, Pilocarpin, Azetylcholin und Glutathion antagonistisch beeinflußt werden.

4. Bei Meerschweinchen erwiesen sich Thioharnstoff, Thiodiglykol, Ferrosulfat, Cholsäure, Lecithin-Cholesterin, Hepatrat, Sympatol, Pilocarpin und Azetylcholin als wirkungslos bei Vergiftung durch Äthylnitrat. Mangansulfat und Jodkalium verzögerten den Eintritt der Giftwirkung, milderten jedoch die Schwere der Vergiftung nicht. Cystein verstärkte eher die Giftigkeit von Äthylnitrat, während bei Verabfolgung von Glutathion oder Ergotamintartrat die so behandelten Tiere weniger schwer erkrankten als die unbehandelten. Noch stärker antagonistisch wirkte Thionin, am stärksten Hämin.

5. Ascorbinsäure, die sich bei der Vergiftung durch Äthylnitrat als wirkungslos erwies, vermochte bei Meerschweinchen und bei Hunden die Wirkung von Dinitroglykol so stark antagonistisch zu beeinflussen, daß Intoxikationssymptome nicht auftraten. Dagegen wirkten Ergotamintartrat, Glutathion, Hämin, Lecithin-Cholesterin und Calcium lacticum auf die Vergiftung durch Dinitroglykol nicht antagonistisch, sondern verschlimmerten eher die Vergiftungserscheinungen.

6. Acidose vermochte bei Meerschweinchen die Giftigkeit von Äthylnitrat und Nitrobenzol herabzusetzen.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Freiburg.
(Direktor: Prof. Dr. S. Janssen.)

Der Einfluß des Kohlenoxyds auf vasomotorische Reaktionen.

Von

Hans-Wolfgang Kayser.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 28. Februar 1939.)

Von allen in der Literatur beschriebenen Wirkungen des Kohlenoxyds auf die Warmblüter einschließlich des Menschen können nur zwei als allgemein anerkannt gelten. Schon Claude Bernard[1] stellte Mitte des vorigen Jahrhunderts fest, daß der Sauerstoff des Blutes durch Kohlenoxyd ausgetrieben wird, welches sich an seine Stelle setzt, so daß die roten Blutkörperchen außerstand gesetzt werden, die Atmung aufrechtzuerhalten. Diese erste Eigenschaft des Kohlenoxyds, sich mit dem Sauerstoffträger des Blutes leichter zu verbinden als der Sauerstoff selbst, ist so vielfach bestätigt und in allen Einzelheiten untersucht worden, daß man sich über diesen Wirkungsmechanismus ein vollkommen klares Bild machen kann. Zweitens darf als gesichert gelten die von Warburg[2] gemachte Feststellung, daß das Atmungsferment der Zellen durch Kohlenoxyd bei höheren Konzentrationen reversibel gehemmt wird. Das Studium des Schrifttums über Kohlenoxydwirkungen zeigt, daß die einzelnen Autoren zwei verschiedenen Lagern angehören. Die ersten vertreten den Standpunkt, daß alle Reaktionen des höheren Organismus auf Kohlenoxyd auf seine Hämoglobinaffinität und damit auf seine Asphyxiewirkung zurückgeführt werden können. Die anderen möchten außerdem eine direkte toxische Wirkung auf die verschiedensten Organsysteme annehmen. Rein zahlenmäßig betrachtet ist diese letzte Gruppe die stärkere, und man muß sich ihr anschließen, wenn man bedenkt, daß eine Hemmung des Atmungsferments in jeder einzelnen Zelle nur als direkte toxische Schädigung bezeichnet werden kann. Die Frage, ob Kohlenoxyd nur ein Asphyxiegift ist oder auch direkte toxische Wirkung hat, dürfte damit generell entschieden sein.

Hier aber scheint das eigentliche Problem nicht zu stecken. Während die Verbindung des Kohlenoxyds mit dem Hämoglobin ein nach physikalischen Gesetzen ablaufender Vorgang ist, der abhängig von der Konzentration, der Zeit, der Menge und anderen definierbaren Größen ist und damit leicht faßbar, ist die Wirkung auf die lebendigen Zellen zweifellos ver-

[1] Bernard, Cl.: Leçons sur les effets des substances toxiques et medicamenteuses, S. 157ff. Paris 1857. — [2] Warburg, O.: Naturw. **15**, 546.

wickelter. Das Hämoglobin, eine unveränderliche chemische Verbindung, unterliegt nicht wie die Zelle den wechselnden Zuständen der Funktion oder der Ernährung. Der wichtigste Unterschied aber ist der, daß der Organismus eines höheren Lebewesens aus verschiedenartigst differenzierten Zellen besteht. Wenn man weiß,daß die Pharmaca elektive Wirkung auf einzelne Zellsysteme haben, so wäre es verwunderlich, wenn diese Eigenschaft nicht auch dem Kohlenoxyd zukäme. Deswegen sollte die Fragestellung richtiger lauten, welche Zell- und Organsysteme werden durch Kohlenoxyd zuerst geschädigt und welche werden weniger oder vielleicht überhaupt nicht betroffen und wie ist die Abhängigkeit von der zugeführten Konzentration und der Dauer der Einwirkung. Betrachtet man unter diesem Gesichtspunkt die Literaturbefunde, so läßt sich doch eine gewisse Einheitlichkeit feststellen.

Das Zentralnervensystem ist zuerst als Angriffspunkt einer direkten Schädigung angesehen worden. In neuerer Zeit haben besonders Mitolo[3], ferner Veger[4], Swetnik[5], Grünstein und Popowa[6] und Wilson und Winkelmann[7] eine direkte toxische Wirkung wahrscheinlich gemacht. Weiter liegen Untersuchungen vor über Veränderungen an den endokrinen Drüsen im Sinne einer Hyper- oder Hypofunktion (Schultze[8], Pseisachovitsch[9], dagegen Nicoletti[10]). Außerdem ist noch eine Hemmung der Samenkeimung beobachtet worden (Haldane[11], Macht[12], dagegen Wehmer[13]). Hingegen konnte Kochmann[14] keine Beeinflussung von Kaulquappen und isolierten Froschherzen, Haggard[15] kein verändertes Wachstum von Hühnerneuroblasten und Lallemand[16] keine Schädigung des unbebrüteten Hühnereies finden. Aus dieser kurzen Zusammenstellung* könnte man vielleicht vorsichtig schließen, daß die am höchsten entwickelten Lebewesen und bei diesen die am weitesten differenzierten Organe wie das Zentralnervensystem in besonderem Maße von einer direkten toxischen Einwirkung betroffen werden. Die größte Schwierigkeit bei der Behauptung einer direkten Kohlenoxydwirkung ist bei allen Untersuchungen der Beweis, daß die beobachtete Schädigung nicht nur eine Folge der Asphyxie ist. Daß unter Umständen eine toxische Wirkung

---

[3] Mitolo, M.: Arch. di Fisiol. **27**, 323—343; **29**, 318—325. — [4] Veger, A. M.: Foret. Psidonerv. **11**, 208—216, Nr. 4/5. — [5] Swetnik, Z.: Mschr. Psychiatr. **74**, 71—86. — [6] Grünstein, A. M., u. N. Popowa: Arch. Psychiatr. (D.) **85**, 283—303. — [7] Wilson u. Winkelmann: J. amer. med. Assoc. **82**, 1407. — [8] Schultze, E.: Klin. Wschr. **1937**, I, S. 427—428. — [9] Pseisachovitsch, I. M.: Virchows Arch. **274**, 223—229. — [10] Nicoletti, F.: Ann. clin. Med. e Med. sper. **19**, 651—693. — [11] Haldane: Biochem. J. (Brit.) **21**, 1068 bis 1075, Nr. 5. — [12] Macht, D.: Science Hynson, Westcott u. Dunning, Baltim. **66**, 198—199. — [13] Wehmer, C.: Ber. dtsch. bot. Ges. **43**, 184—188, Nr. 4. — [14] Kochmann, M.: Biochem. Z. **111**, 39—49, Nr. 1—3. — [15] Haggard, H. W.: Amer. J. Physiol. **60**, 244—249, Nr. 2. — [16] Lallemand, S.: Bull. Sci. pharmacol. **36**, 65—72.

* Ausführliche Literaturzusammenstellungen siehe Bock, J.: Das Kohlenoxyd in Handb. d. exp. Pharm. v. Heffter, Bd. I, 1923. Petri, E.: Vergiftungen in Handb. d. spez. path. Anat. u. Histol. Bd. X von Henke-Lubarsch, 1930.

auch vorgetäuscht wird, konnte in eigenen Untersuchungen über den Carotissinusentlastungsreflex unter Kohlenoxydwirkung gezeigt werden (Kayser[17]). Es stellte sich heraus, daß die Umkehr des Carotidenabklemmungseffektes unter Kohlenoxydwirkung nicht auf einer veränderten Reaktion des Zentralnervensystems oder irgendeines Teiles dieses Reflexbogens beruhte, sondern eine echte Sauerstoffmangelwirkung war. Ob eine direkte Schädigung des Zentrums hierbei die Asphyxiewirkung begünstigt, diese Frage konnte nicht beantwortet werden. Auf Grund einer neuen Versuchsreihe an Katzen konnte aber nunmehr festgestellt werden, daß ein direkter zentraler Angriff des Kohlenoxyds neben den Wirkungen der Asphyxie angenommen werden muß.

Methodik.

Die Narkose und Versuchsanordnung war die gleiche wie bei der vorhergehenden Arbeit[17]. Die Registrierung der Atmung erfolgte mit Mareykapsel im Nebenschluß. Zur künstlichen Beatmung wurde eine Starlingpumpe verwendet. Blutproben, aus der Art. fem. entnommen, wurden auf Kohlenoxydhämoglobin photometrisch nach Oettel[18] untersucht. Wegen der leichten Zersetzlichkeit des Katzenblutes wurden alle Bestimmungen innerhalb von 2 Minuten nach der Blutentnahme gemacht.

I. Die Aufhebung der Kohlensäureblutdrucksteigerung durch Kohlenoxyd.

Der wichtigste Befund, welcher einen zentralen Angriff des Kohlenoxyds wahrscheinlich macht, ist folgender: Atmet das Versuchstier ein Gemisch von 90% Sauerstoff und 10% Kohlensäure ein, so steigt außer der Frequenz- und Tiefenzunahme der Atmung auch der arterielle Druck. Diese arterielle Drucksteigerung ist noch ausgesprochener und bei jedesmaliger Zufuhr des Gasgemisches konstant, wenn man die natürliche durch künstliche Atmung ersetzt. Abb. 1 zeigt einen solchen Versuch. Der Kohlensäurezusatz bewirkt einen arteriellen Druckanstieg von 95 auf 125 mm Hg in beiden Fällen. 10% Kohlenoxyd zusammen mit diesem Gemisch gegeben unterdrückt die Blutdrucksteigerung vollständig. Bei einigen Versuchen trat sogar eine Senkung ein. Nachdem die Kohlenoxyd-Kohlensäure-Sauerstoffmischung $2^1/_2$ Minuten gegeben war, sind 57,5% des Hämoglobins mit Kohlenoxyd besetzt. Nach reiner Sauerstoffatmung für die Dauer von 10 Minuten sank der Anteil des Kohlenoxydhämoglobins auf 25%. Die jetzt wiederholte Prüfung der Kohlensäurewirkung zeigt, daß der Blutdruck wieder in beiden Fällen von 65 auf 110 mm Hg ansteigt. Man findet also, daß die vasomotorische Reaktion des Blutdrucks auf Kohlensäure durch Kohlenoxyd reversibel aufgehoben wird. Ein analoges Verhalten zeigt auch die Atmung, jedoch ist die Hemmung der Kohlensäureatmungssteigerung nur gering.

[17] Kayser, H. W.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **190**, 248—255, Nr. 3/4. — [18] Oettel, H.: Ebenda **190**, 233—247, Nr. 3/4.

So eindeutig dieses Versuchsergebnis ist, so schwierig ist die richtige Deutung. Die Wirkung der Kohlensäure auf den Blutdruck ist bereits seit langer Zeit bekannt. Sie setzt sich zusammen aus einer peripheren vasodilatatorischen und einer zentralen vasokonstriktorischen Wirkung. (Zusammenfassende Literaturangabe bei Dautrebande[19].) Durch Heymans[20] wird nun die Ansicht vertreten, daß die vasokonstriktorische Wirkung der Kohlensäure auf das Vasomotorenzentrum nur reflektorisch zustande käme auf dem Wege über die vasosensiblen Zonen. Bei dieser Annahme wäre nicht zu entscheiden, ob die Aufhebung der Kohlensäureblutdrucksteigerung durch Kohlenoxyd zentral oder an den nervösen Endorganen in den vasosensiblen Zonen stattfindet. Ein Angriffspunkt am Herzen oder an den Gefäßen ist bei diesen Versuchen überhaupt abzulehnen (Haggard[21], Kayser[17]). Daß die Kohlensäure über die vasosensiblen Zonen auf das Vasomotorenzentrum wirkt, unterliegt nach den eindeutigen Befunden von Heymans und seinen Mitarbeitern keinem Zweifel, daß aber außerdem eine direkte zentrale Wirkung vorhanden

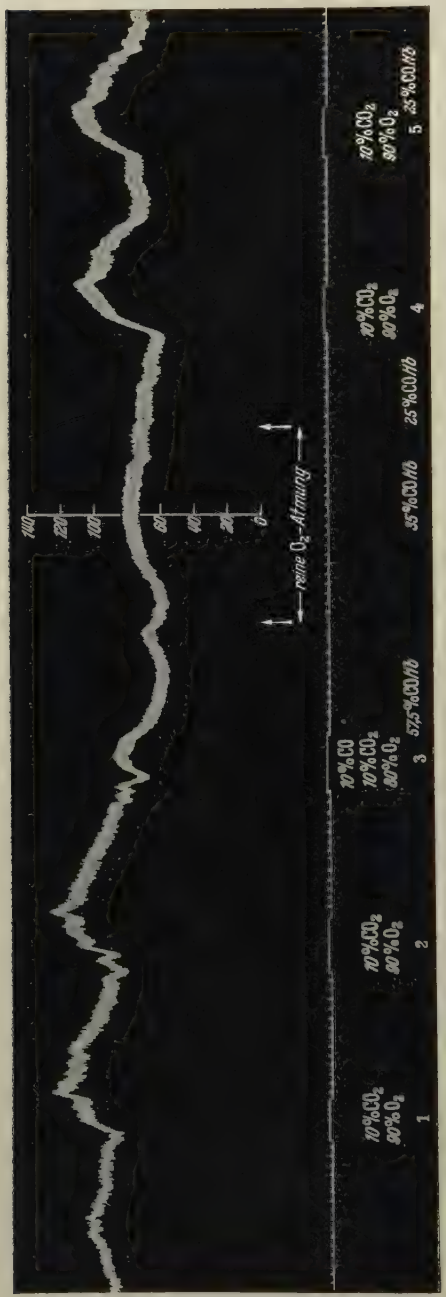


Abb. 1. Katze, 2330 g. Blutdruck mit Hg-Manometer aus der Art. car. 1, 2, 4, 5, Einatmung von Sauerstoff mit 10% Kohlensäure, 3 mit Zusatz von 10% Kohlenoxyd. Künstliche Atmung mit Starlingpumpe. Zeit in 1/2 Min. von ▲ — ▲ reine Sauerstoffatmung.

[19] Dautrebande, L.: Arch. internat. Pharmacodynam. **40**, 107—114. — [20] Heymans, C., J. J. Bouckaert, P. Régniers: Le Sinus carotidien. Paris 1933. — [21] Haggard, H. W.: Amer. J. Physiol. **56**, 390—403, Nr. 3.

ist, entspricht der Auffassung der meisten Forscher. Eine Begründung für diese Annahme findet man bei Meyer-Gottlieb[22]. Die Fragestellung nach dem Angriffspunkt der Kohlesäure ist bisher außer von Heymans von niemandem experimentell angegangen worden. Nur eine Feststellung von Gollwitzer-Meyer[23] kann der Ansicht von Heymans entgegengehalten werden, daß nämlich durch subdurale Injektion in Höhe der Medulla oblongata von kohlensäurehaltiger Kochsalzlösung eine Blutdrucksteigerung erzielt wird, während dieselbe Menge in die Carotis injiziert wirkungslos bleibt. Wenn man aber eine zentrale Kohlensäurewirkung annimmt, so muß auch der Angriffspunkt des Kohlenoxyds, wenigstens zu einem Teil, ein zentraler sein. Eine Vergiftung der vasosensiblen Zonen ist unwahrscheinlich nach den Untersuchungen von Kayser[17], welcher feststellte, daß auch, wenn 50% Kohlenoxydhämoglobin vorhanden sind, der Entlastungsreflex des Carotissinus erhalten bleibt. Wenn aber Kohlenoxyd die vasosensiblen Zonen in keiner ihrer Funktionen beeinflußt, so kann die Aufhebung der vasomotorischen Reaktion auf Kohlensäure nur noch auf einer zentralen Lähmung beruhen.

II. Die Aufhebung der Erstickungblutdrucksteigerung durch Kohlenoxyd.

Seit den Untersuchungen von Mares, Hill und Flak und Mathison (s. Brewer[24]) ist bekannt, daß durch eine Erstickung ohne Kohlensäureanhäufung eine Blutdrucksteigerung hervorgerufen wird. Eine solche Blutdrucksteigerung wird erzielt, wenn das Versuchstier ein indifferentes Gas, z. B. Stickstoff, einatmet. Der Anstieg des Blutdrucks ist in seinem Ausmaß sehr variabel. Bei Brewer[24] schwankt er bei fünf Versuchen an Hunden zwischen 20 und 80%, im Mittel beträgt er 56% des Ausgangswertes. Nach 20 eigenen Versuchen an Katzen liegen diese Werte zwischen 1—33%, im Mittel bei 13% des Ausgangswertes. Die Erstickungsblutdrucksteigerung bei Einatmung von reinem Stickstoff wird ebenfalls durch Kohlenoxyd aufgehoben. Bei vier von neun Versuchen genügten bereits Zusätze von 10%, bei den übrigen mußten bis zu 20% Kohlenoxyd gegeben werden. In Abb. 2 steigt nach reiner Stickstoffatmung der Blutdruck von 107 auf 112 mm Hg. Bei Zusatz von 10% Kohlenoxyd fällt der Blutdruck sofort ab. Nach 10 Minuten lang dauernder Sauerstoffatmung bewirkt die Erstickung wieder eine Blutdrucksteigerung von 82 auf 90 mm Hg. Geringere Dosen von Kohlenoxyd heben zwar die Blutdrucksteigerung nicht auf, verkleinern jedoch je nach ihrer Größe die Höhe des Anstiegs. Schon bei einem Zusatz von 3% Kohlenoyxd kann ein geringeres Ansteigen des Blutdrucks beobachtet werden, während kurze Zeit später der Blutdruck bei reiner Stickstoffzufuhr wieder seine alte Höhe erreicht.

---

[22] Meyer-Gottlieb: Experimentelle Pharmakologie. Berlin-Wien 1933. — [23] Gollwitzer-Meyer, K.: Pflügers Arch. **222**, 124—141. — [24] Brewer, N. R.: Amer. J. Physiol. **120**, 91, Nr. 1.

Die vasomotorische Reaktion auf Erstickung ist komplizierter als diejenige auf Kohlensäure. Das Verhalten des Blutdrucks zeigt, daß mehrere Faktoren eine Rolle spielen müssen. Brewer[24] hat bereits eine genaue Beschreibung gegeben: Auf den ersten Blutdruckanstieg folgt ein steiler Abfall. Wird dann wieder Luft gegeben, so kommt ein zweiter Anstieg zustande, bis sich der Blutdruck wieder auf sein altes Niveau einreguliert. Die anfängliche Steigerung wird als Reflex bezeichnet, ausgehend vom Carotissinus und von der vasosensiblen Zone des Herzens und der Aorta, da sie nach Entnervung dieser Organe ausbleibt. Warum der

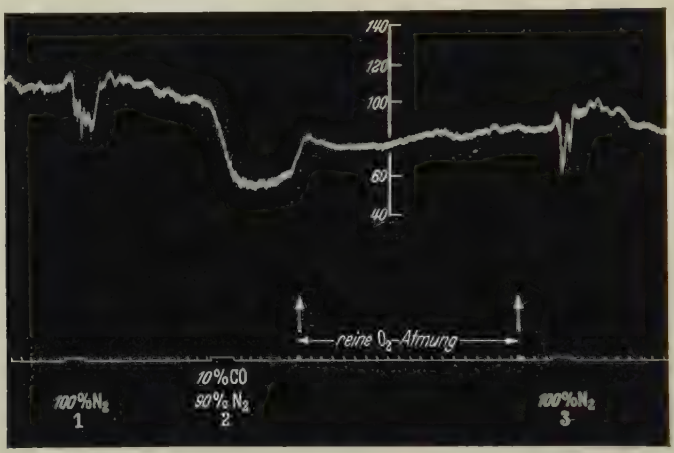


Abb. 2. Katze, 2700 g. Blutdruck aus der Art. fem. mit Hg-Manometer. 1. u. 3. Erstickung mit reinem Stickstoff. 2 mit Zusatz von 10 % Kohlenoxyd. Zeit in 1/2 Min. Von ⏃ — ⏃ reine Sauerstoffatmung. Natürliche Atmung.

Blutdruck so plötzlich innerhalb weniger Sekunden abfällt, wird von Brewer nicht diskutiert. Als Ursache für die zweite Steigerung wird eine Adrenalinausschüttung in Erwägung gezogen. Auf Grund der eigenen Versuche muß dazu folgendes hinzugefügt werden. Die Blutdrucksteigerung bei Beginn der Erstickung ist sicherlich zum größten Teil die Folge einer Reflexauslösung an den vasosensiblen Zonen, und zwar ist anscheinend die Zone des Herzens und der Aorta hauptsächlich beteiligt, denn Vagus- oder Depressorendurchschneidung hebt die Blutdrucksteigerung in höherem Maße auf als die Ausschaltung der Carotissinuszone entweder durch Entnerven oder Abbinden der Carotiden. Wenn Jarisch und Richter[25] bei ihren Untersuchungen über den Bezold-Effekt zeigen konnten, daß cardiale Rezeptoren durch einzelne Pharmaca elektiv gereizt werden können, so daß eine Blutdrucksenkung ohne Mitbeteiligung der Carotissinus zustande kommt, so wäre die Beobachtung, daß der Hauptreiz für die Blutdrucksteigerung bei Erstickung im Nerv. depressor verläuft, vielleicht ein Gegen-

[25] Jarisch, A., u. H. Richter: Klin. Wschr. **18**, 185—187, Nr. 6.

stück zu den Befunden dieser Autoren. Der auf die Blutdrucksteigerung folgende Abfall läßt das Zusammenwirken zweier Faktoren erkennen. Den ersten Anstoß gibt das Vaguszentrum, welches durch die allmählich einsetzende Erstickung gereizt wird. Gibt man nämlich vorher Atropin, so ist die Blutdrucksteigerung bis zu 300% höher und der Abfall erfolgt nicht so abrupt. Die weitere Senkung beruht auf einer durch die Erstickung hervorgerufenen Lähmung des Vasomotorenzentrums. Den zweiten Blutdruckanstieg bei der Rückkehr zur Luftatmung, der auch ebenso oft fehlt, kann man sich als überschießende Einregulierung auf die alte Höhe ohne weiteres vorstellen.

Die Bestimmung des Angriffspunktes des Kohlenoxyds auf die vasomotorische Reaktion bei der Erstickung bereitet die gleichen Schwierigkeiten wie bei der Kohlensäureatmung. Brewer kam auf Grund seiner Beobachtung, daß bei Erstickung mit Kohlenoxyd und Sauerstoff niemals der Blutdruck ansteigt, während ein Anstieg bei derselben Kohlenoxydkonzentration mit Stickstoff vorhanden ist, zu dem Schluß, daß 1. die absinkende Sauerstoffspannung des Blutes der Reiz für die nervösen Endorgane der vasosensiblen Zonen sei — bei Erstickung mit Kohlenoxyd und Sauerstoff könne daher kein Blutdruckanstieg erfolgen, weil die Sauerstoffspannung immer hoch bleibt — und daß 2. Kohlenoxyd keine giftige Wirkung auf die vasosensiblen Zonen habe. So sehr besonders die zweite Behauptung die Deutung der eigenen Befunde unterstützen würde, so muß man doch zuerst fragen, ob Brewers Versuche als beweisend angesehen werden können. Sind denn die Versuchsbedingungen dieselben bei Erstickung mit 10% Kohlenoxyd und 90% Sauerstoff einerseits und 10% Kohlenoxyd und 90% Stickstoff andererseits, so daß man beides miteinander vergleichen kann? Die Blutdrucksteigerung bei reiner Stickstoffatmung oder mit Zusatz von Kohlenoxyd tritt innerhalb der ersten Minute ein. Es ist eine sehr schnell verlaufende Erstickung. Gibt man Kohlenoxyd mit Sauerstoff, so muß erst das Hämoglobin soweit mit Kohlenoxyd gesättigt sein, daß kein Sauerstoff mehr transportiert werden kann und Erstickung eintritt. Brewer hat, soweit dies aus seinen Kurven ersichtlich ist, 10% Kohlenoxyd mit Sauerstoff 2—5 Minuten lang gegeben. Der von ihm gefundene Sauerstoffgehalt des Blutes beträgt dann im Durchschnitt 4,1 Vol.%. Aus seinen Angaben über den Sauerstoffgehalt bei Erstickung mit 10% Kohlenoxyd und Stickstoff errechnet man aber einen Durchschnitt von 1,5 Vol.%. Brewer hat also mit 10% Kohlenoxyd und Sauerstoff nicht denselben Grad der Erstickung erzielt wie mit 10% Kohlenoxyd und Stickstoff. Nach eigenen Untersuchungen ist dies auch nicht möglich. In fünf Versuchen wurden, nachdem die Tiere 2—6 Minuten Sauerstoff mit 10% Kohlenoxyd geatmet hatten, im Durchschnitt 60%, im Höchstfalle 68% Kohlenoxydhämoglobin gefunden, was etwa 6,4 bis 7 Vol.% Sauerstoff im Blute entsprechen würde. Bei 1,5 Vol.% Sauerstoff hingegen müßten, wenn alles übrige Hämoglobin mit Kohlenoxyd ge-

sättigt wäre, 90–93% Kohlenoxydhämoglobin vorhanden sein. Anders liegen die Bedingungen für den Blutdruckreflex bei Erstickung mit Kohlenoxyd und Stickstoff. Hier spielt das Kohlenoxyd nur eine Nebenrolle. Auch der Gehalt an Kohlenoxydhämoglobin – alle Blutproben wurden bei Beginn des Blutdruckabffalles entnommen — steigt nicht so hoch an. In fünf Versuchen beträgt er im Durchschnitt 42%, im Höchstfalle 55%. Außer diesen Überlegungen, welche Brewer aus seinen eigenen Befunden hätte ableiten können, ist ihm aber entgangen, daß der Zusatz von Kohlenoxyd zu Stickstoff auch in kleinen Dosen nicht wirkungslos bleibt. Dies ist aber nur zu beobachten, wenn man die Erstickungsreaktion des Blutdrucks mit und ohne Kohlenoxydzusatz bei ein und demselben Tiere mehrfach prüft.

Es muß daher abgelehnt werden, Brewers Versuche als beweisend für die Ungiftigkeit des Kohlenoxyds auf die vasosensiblen Zonen gelten zu lassen. Daß die Annahme einer solchen Ungiftigkeit aller Wahrscheinlichkeit nach zu Recht besteht, wurde bereits bei der Besprechung der Kohlenoxydwirkung auf die Kohlensäureblutdrucksteigerung erörtert. Es läßt sich aber auch bei diesen Versuchen ein zentraler Angriffspunkt des Kohlenoxyds wahrscheinlich machen. Entnervt man nämlich die vasosensiblen Zonen, so steigt der Blutdruck bei Erstickung, wenn auch in bedeutend geringerem Maße, noch an. Das beste Beispiel gibt außer eigenen Versuchen der von Heymans[20] auf S. 170 abgebildete Versuch. Da durch Zusatz von 10—20% Kohlenoxyd zum Stickstoff auch diese Reststeigerung des Blutdrucks, welche man nur noch als zentral bedingt ansehen kann (vgl. Heymans[20], S. 171, Fußnote), unterdrückt wird, so dürfte damit auch bei der vasomotorischen Reaktion der Erstickung der Angriffspunkt des Kohlenoxyds ein zentraler sein.

Zum Schlusse soll noch eine Beobachtung mitgeteilt werden. Es war auffallend bei allen Versuchen, daß der einmal im Blute vorhandene Anteil an Kohlenoxydhämoglobin auf die beschriebenen vasomotorischen Reaktionen anscheinend nur einen geringen Einfluß hat, solange er sich in Grenzen hält, die mit dem Leben noch vereinbar sind. Die Blutdrucksteigerung durch Kohlensäure oder Stickstoff ist schon wenige Minuten, nachdem sie gerade durch Kohlenoxyd aufgehoben war, wieder zu beobachten. Abb. 3 zeigt den extremsten Fall. 5 Minuten atmete das Tier ein Gemisch von 10% Kohlenoxyd und 90% Sauerstoff. Darauf wurde umgeschaltet auf reine Stickstoffatmung. Im Augenblick der Umschaltung sind 68% Kohlenoxydhämoglobin im Blute vorhanden, trotzdem steigt jetzt der Blutdruck an wie im Normalfalle.

Diese Beobachtung muß zu der Annahme führen, daß nicht der Kohlenoxydhämoglobingehalt, sondern die Spannung des Kohlenoxyds im Blute die vasomotorischen Reaktionen aufhebt. Diese Vorstellung gewinnt an Wahrscheinlichkeit, wenn man daran denkt, daß Kohlenoxyd so fest an Hämoglobin gebunden ist, daß eine toxische Einwirkung auf die Gewebe

kaum mehr erwartet werden kann, während das entsprechend seiner Spannung im Blute gelöste Kohlenoxyd bedeutend leichter auf die verschiedensten Organe, in diesem besonderen Falle auf das Zentralnervensystem, wirken kann. Gleichgültig kann aber auch ein höherer Prozentsatz von Kohlenoxydhämoglobin im Blute nicht sein. Auf eine Beobachtung bei allen Kohlenoxydversuchen möge ganz besonders hingewiesen werden. Mit der Zunahme von Kohlenoxydhämoglobin im Blute sinkt der Blutdruck stetig ab. Dies kommt auch in den drei abgebildeten Kurven deutlich zum Ausdruck, eine Tatsache, der gerade wegen ihrer therapeutischen Wichtigkeit nicht genügend Aufmerksamkeit geschenkt wurde. Nach all diesen Beobachtungen besteht die große Wahrscheinlichkeit, daß die Senkung des Blutdrucks auch im Verlauf einer langsam einsetzenden Kohlenoxydvergiftung auf einer fortschreitenden Lähmung des Vasomotorenzentrums beruht. Bereits in der vorhergehenden Arbeit habe ich daher auf die gute Antidotwirkung der zentralen Analeptica gegenüber den peripheren Kreislaufmitteln hingewiesen. Durch diese Untersuchungen gewinnt die Richtigkeit einer solchen Therapie eine weitere Stütze.

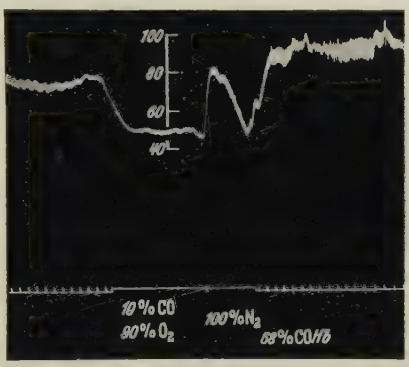


Abb. 3. Katze, 1650 g. Blutdruck aus der Art. car. mit Hg-Manometer. Erstickung mit 10% Kohlenoxyd in Sauerstoff und anschließend mit reinem Stickstoff. Zeit in $^1/_2$ Min. Natürliche Atmung.

Zusammenfassung.

Kohlenoxyd vermindert bei einem Zusatz bis zu 10% die Blutdrucksteigerung, welche durch Einatmung von Sauerstoff und 10% Kohlensäure oder von reinem Stickstoff hervorgerufen wird.

Bei einem Zusatz von 10—20% bis zu 100% Kohlenoxyd ist die Blutdrucksteigerung aufgehoben.

Die Wirkung des Kohlenoxyds auf das Vasomotorenzentrum ist keine Folge der Asphyxie, sondern eine direkt toxische. Der durch Kohlenoxyd bedingte Blutdruckabfall kann daher nur durch zentrale Analeptica behoben werden.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Köln.
(Direktor: Prof. Dr. J. Schüller.)

Über den Einfluß verminderter Nahrungszufuhr auf Schilddrüse und thyreotropes Hormon des Hypophysen-Vorderlappens.

Von
Gerhart Hundhausen.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 24. April 1939.)

Unsere Versuche über die Beziehungen zwischen Schilddrüse und Hypophysen-Vorderlappen (HVL) bei B_1-Avitaminose [1] zeigten einen erheblichen Gewichtsverlust der B_1-avitaminotischen Tiere, der teilweise 50% des Anfangskörpergewichts überschritt. Infolge der B_1-freien Diät ließ die Freßlust der Versuchstiere nach etwa 10—15 Tagen nach und bald betrug die Nahrungsaufnahme nur noch 40—50% der Kontrolltiere. Wir fanden bei den B_1-avitaminotischen Tieren eine Ruhigstellung der Schilddrüsen und deutliche Verminderung des HVL an thyreotropem Hormon (th. H.). Diese Veränderungen wurden auf den Mangel von Vitamin B_1 in der Nahrung bezogen. Es könnte nun der Einwand gemacht werden, daß nicht das Fehlen von Vitamin B_1 die Verminderung des th. H. und die Ruhigstellung der Schilddrüse bewirkt, sondern die verminderte Nahrungszufuhr an sich zu einer Inaktivierung der Schilddrüse über den Weg des dieser Drüse übergeordneten HVL führt. Es wäre ja als zweckmäßige Regulation anzusehen, wenn der Körper bei verminderter Nahrungsaufnahme mit einer Senkung des Stoffwechsels durch Dämpfung der Schilddrüse reagierte.

Es mußte deshalb untersucht werden, ob schon allein die quantitativ verminderte Nahrungsaufnahme den Tätigkeitszustand der Schilddrüse und des Hypophysenvorderlappens verändern würde, ganz unabhängig von einer qualitativ veränderten Zusammensetzung (B_1-Mangel).

Bei den B_1-Avitaminose-Versuchen hatten wir die Nahrungsaufnahme des im Überschuß angebotenen Futters bei Versuchs- und Kontrolltieren täglich durch Rückwägung des übriggelassenen Futters bestimmt. Die Nahrungsaufnahme der Versuchstiere betrug bald nach Einsetzen des Gewichtsabfalls 10—12 g pro Tag und Tier gegenüber 25 g pro Tag und Tier bei den Kontrolltieren und hielt sich während 7 Wochen bis kurz ante exitum auf diesem Wert.

---

[1] Hundhausen u. Schulze: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 570 (1939).

Methodik.

Wir benützten 24 weibliche und männliche Albino-Ratten im Gewicht von 115–205 g, vom gleichen Züchter wie in den früheren Versuchen. Das Futter bestand in der gleichen Kost wie in den Kontrollversuchen zur B_1-Avitaminose also in der von Kinnersley, Peters und Reader [2]) angegebenen Diät mit Zulage von vollwertiger Hefe, wodurch die Diät zu einer vollwertigen Rattennahrung wird. Auf dieser Kost waren in früheren Versuchen die Kontrolltiere ausgezeichnet gediehen. 12 Kontrolltiere erhielten das Futter im Überschuß, die anderen Tiere erhielten stetig geringere Portionen dieser Kostmischung, bis etwa nach 8 Tagen die obengenannte Futtermenge von 10 g pro Tag und Tier erreicht war. Die Tiere saßen in Einzelkäfigen und bekamen jeden Morgen ihre Futterportion zugeteilt.

Als nach etwa 3 Wochen die Tiere mit verringerter Nahrungszugabe schwach und elend geworden waren und kurz ante exitum standen, wurden sie durch Nackenschlag getötet. Wir bestimmten den Tätigkeitszustand der Ratten-Schilddrüsen nach dem histologischen Bilde (F. Kampelmann [3]) und ihrem Gewicht [4]. Der Gehalt des HVL an th. H. wurde nach Übertragung der Hypophysen auf infantile Meerschweinchen durch den Grad der Aktivierung der Empfängerschilddrüsen im histologischen Bilde (Heyl und Laqueur [5]) und durch ihre Gewichtszunahme [4] gemessen.

Versuchsergebnisse.

Auf der Diät gediehen die Kontrolltiere sehr gut und nahmen an Gewicht zu, während die unterernährten Tiere — was ja zu erwarten war — in wenigen Tagen an Gewicht abnahmen, dann einen rapiden Gewichtssturz zeigten. Bis kurz vor Versuchsende, zu welcher Zeit die Tiere die Nahrungsaufnahme verweigerten, wurde das gereichte Futter immer sofort gefressen. Sie wurden im Zustand großer Schwäche durch Nackenschlag getötet. Auffallend war, daß die Ratten die Unterernährung bei zwangsweise eingeschränkter Nahrungszufuhr vollwertiger Nahrung bedeutend kürzere Zeit aushalten als bei freiwilliger Verminderung der Nahrungsaufnahme durch Inappetenz infolge B_1-Mangel der Nahrung. Die Tiere mit reduzierter Nahrungszufuhr kamen nach etwa 3 Wochen nach einem Gewichtssturz von 35% des Anfangskörpergewichts schon spontan ad exitum, während die Tiere auf B_1-avitaminotischer Diät 6–7 Wochen aushielten und einen Gewichtsverlust von 46% des

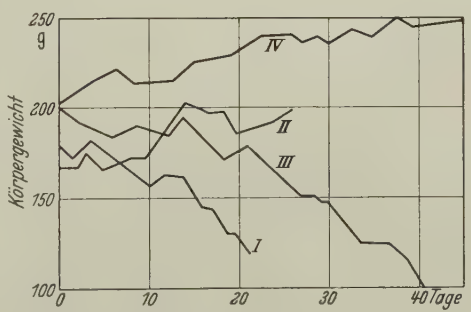


Abb. 1. Gewichtskurven von B_1-avitaminotischen Tieren, kostarmen Tieren und Kontrolltieren.
I. Kostarme Tiere,
II. Normale Kontrolltiere,
III. B_1-avitaminotischen Tieren,
IV. Normale Kontrolltiere.

[2] Kinnersley, Peters u. Reader: ref. Bomskow, Methodik der Vitaminforschg. 1935. — [3] Kampelmann, F.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **184**, 141 1937). — [4] Hundhausen, G., u. E. Schulze: l. c. S. 577. — [5] Heyl u. Laqueur: Arch. internat. Pharmacodynam. **49**, 338 (1934).

Tabelle 1. Kostarme Tiere.

Ratten						Meerschweinchen, denen die vorstehenden Hypophysen übertragen wurden		
Ratte Nr.	Anfangskörpergewicht in g	Endkörpergewicht in g	Gewicht der Schilddrüse in mg	Tätigkeitszustand der Schilddrüse	Gewicht der Hypophyse in mg	Meerschweinchen Nr.	Gewicht der Schilddrüse in mg	Tätigkeitszustand der Schilddrüse
224 ♀	195	140	13	III	10	Ms 150	fehlt	*s (t)*
228 ♀	195	145	14	III/IV	10			
232 ♀	205	150	17	III/IV	11	Ms 151	41	fehlt
233 ♀	165	115	10,5	III/IV	6			
218 ♀	160	115	12	III/IV	11	Ms 152	48	*s (t)*
220 ♀	195	145	17	II	10			
229 ♂	175	120	8,5	IV	6	Ms 153	37	*s/t*
225 ♂	150	100	8,5	III	6,5			
230 ♂	120	75	6	III/IV	5	Ms 154	49	*s*
223 ♂	125	85	7	III	6			
227 ♂	140	95	10,5	III/IV	6	Ms 155	47	*s*
221 ♂	150	105	8	III	5,5			
Mittel:	173	115	11,9 ± 2,2*	III, 3	7,1 ± 1,4*	Mittel:	44,4 ± 4,6*	*s / (t)*

Tabelle 2. Normaltiere.

Ratten						Meerschweinchen, denen die vorstehenden Hypophysen übertragen wurden		
Ratte Nr.	Anfangskörpergewicht in g	Endkörpergewicht in g	Gewicht der Schilddrüse in mg	Tätigkeitszustand der Schilddrüse	Gewicht der Hypophyse in mg	Meerschweinchen Nr.	Gewicht der Schilddrüse in mg	Tätigkeitszustand der Schilddrüse
234 ♀	170	215	18,5	III/IV	11,5	Ms 156	fehlt	*s*
238 ♀	190	225	20	III	12,5			
240 ♀	205	240	24	II/III	15,5	Ms 157	51	*s (t)*
245 ♂	135	156	14	III	9			
241 ♂	145	212	12	III/IV	6,5	Ms 158	40	*(v) s*
244 ♂	115	160	10	III	6			
236 ♂	130	164	16	III	7	Ms 159	32,5	*v/s*
242 ♂	140	168	13,5	III	9			
237 ♂	180	190	16	IV	5,5	Ms 160	32,0	*s*
243 ♂	115	145	11,5	III/IV	8			
239 ♂	165	195	9,5	III	6,5	Ms 161	42,5	*s (v)*
235 ♂	135	215	7,5	III/IV	7			
Mittel:	150	190	14,3 ± 2,8*	III, 2	8,6 + 1,6*	Mittel:	39,6 ± 7,0*	*s*

* Die Grenzen ± geben den doppelten mittleren Fehler an. Unterschiede, die größer als der doppelte mittlere Fehler sind, sind signifikant. Vgl. Hundhausen u. Schulze, l. c., S. 578.

Anfangskörpergewichts erlitten. Es scheinen hier Regulationsmechanismen in Wirkung getreten zu sein, etwa in dem Sinne einer Dämpfung

der Schilddrüse. Gewichtskurven von kostarmen Tieren und normalen Kontrollen sowie B_1-avitaminotischen Tieren und ihren Kontrolltieren gibt Abb. 1.

Die Befunde an Schilddrüsen und Hypophysen gibt im einzelnen für die kostarmen Tiere Tabelle 1 und für die normalen Kontrollen Tabelle 2 wieder. Durch Verminderung der Nahrungszufuhr auf die Hälfte und dadurch bedingter fortschreitender Inanition, kommt es zu keiner Veränderung des histologischen Bildes der Schilddrüse; denn für die Hungerschilddrüsen errechnete sich ein Mittelwert von III, 3 und für die Kontrolltiere von

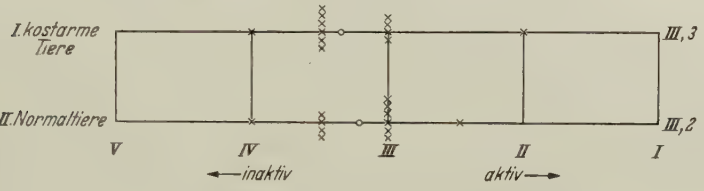


Abb. 2. Tätigkeitszustand der Rattenschilddrüsen
× Einzeltier,
o Mittelwert der Gruppe (am rechten Rand in Zahlen ausgedrückt).

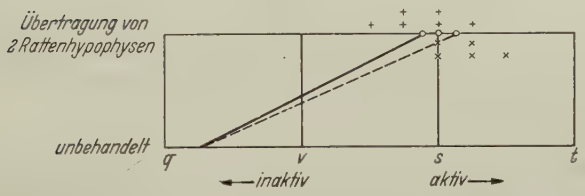


Abb. 3. Veränderung der Meerschweinchenschilddrüse nach Übertragung von Hypophysen normaler und bei teilweisem Hunger gehaltener Ratten.
× Einzeltier
— — — Mittelwert der Gruppe } Hunger-Gruppe
\+ Einzeltier
——— Mittelwert der Gruppe } Normale Tiere.

III, 2 (Abb. 2). Auch gravimetrisch findet sich im Schilddrüsengewicht kein Unterschied zwischen kostarmen Ratten und Kontrollgruppe (Tabelle 1 und 2).

Der Gehalt des Hypophysen-Vorderlappens an thyreotropem Hormon wird ebenfalls durch Verminderung der Nahrungszufuhr nicht verändert. Nach Übertragung der Ratten-Hypophysen auf infantile Meerschweinchen wurde deren Schilddrüse ebenso stark aktiviert wie durch Übertragung der Hypophysen normaler Ratten. Abb. 3 gibt eine Übersicht über die gefundenen Einzelwerte und die Mittelwerte der Gruppe in Beziehung zum Ausgangswert *q*. Auch gravimetrisch war kein Unterschied zwischen den Gewichten der Meerschweinchenschilddrüsen beider Versuchsgruppen festzustellen (Tabelle 1 und 2).

Zusammenfassung.

In früheren Versuchen an Ratten war gezeigt, daß Vitamin-B_1-Mangel in der Nahrung zu verminderter Nahrungsaufnahme, starkem Gewichtssturz und gleichzeitig zu einer Ruhigstellung der Schilddrüse und zu vermindertem Gehalt der Hypophyse an thyreotropem Hormon führt.

Diese Befunde an Thyreoidea und Hypophyse sind auf den B_1-Mangel zu beziehen und nicht auf die quantitative Reduktion der Nahrungsaufnahme, denn unsere Versuche zeigen, daß durch alleinige Verringerung der Nahrungszufuhr auf die Hälfte bei qualitativ normaler Zusammensetzung weder sichtbare Veränderungen der Schilddrüse noch Veränderungen der Hypophyse in bezug auf ihren Gehalt an thyreotropem Hormon auftreten.

Aus der I. Mediz. Klinik der Universität München.
(Direktor: Prof. Stepp.)*.

Experimentelle Untersuchungen über die Entgiftung von Chinidin durch Sympatol.

Von

Dr. **L. L. Kirchmann**, Wassenaar, Holland.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 10. März 1939.)

Das Chinidin hat sich wegen seiner negativ bathmotropen Wirkung auf das Herz in der Klinik als ein vorzügliches Mittel bei den verschiedenen Formen der Extrasystolie und beim Vorhofflattern und -flimmern eingeführt. Indes führt seine Anwendung in den Fällen, in denen das Vorhofflimmern schon lange Zeit besteht, nur in sehr großen Dosen zum Erfolg und auch dann nicht immer. Nun sind große Chinidindosen bis zu 2 g täglich bei Herzkranken durchaus nicht unbedenklich, weil sich neben der erwünschten bathmotropen Wirkung auch die negativ inotrope Wirkung in gefährlicher Weise geltend machen kann. Von diesem Gesichtspunkte ausgehend, haben Stepp und ich versucht, das Chinidin mit Sympatol zu kombinieren. Nach den schönen Untersuchungen von Gremels ist ja das Sympatol ein ideales Mittel, um die Herzleistung zu verbessern, und das außerdem an sich schon eine regularisierende Wirkung besitzt.

Neben den klinischen Versuchen erschien es uns erwünscht, eine Reihe von Fragen im Tierexperiment zu erklären.

Zunächst sollte im Versuch an der Katze die Wirkung des Chinidins auf das Verhalten des arteriellen und Vorhofdrucks einmal nach Chinidin, dann nach Chinidin plus Sympatol geprüft werden; dabei war die tödliche Dosis von Chinidin und von Chinidin plus Sympatol festzustellen, wobei gleichzeitig das günstigste Mengenverhältnis Sympatol—Chinidin ermittelt werden sollte.

In einer anderen Reihe von Versuchen sollte in möglichster Nachahmung der natürlichen Verhältnisse, d. h. bei geschlossenem Thorax (wobei nur der arterielle Druck registriert wurde), an Hand von Dauerinfusionen einmal von Chinidin allein, dann von Chinidin plus Sympatol, festgestellt werden, wie sich bei Variierung der Einflußgeschwindigkeit die Lebensdauer der Tiere verhält. Es erschien dies wichtig im Hinblick auf die Verwendung des Chinidins beim Menschen in Form der peroralen Darreichung.

* Die Versuche wurden ausgeführt im Pharmakologischen Institut der Universität Marburg (Prof. Dr. Gremels) und im Pharmakologischen Institut der Universität München (Geheimrat Prof. Dr. Straub).

Endlich sollte die Wirkung großer Einzeldosen (Chinidin, Chinidin-Sympatolstöße) geprüft werden.

Als die Versuche bereits begonnen waren, wurde uns die schöne Arbeit von Anitschkow und Sakussow bekannt, auf die wir ausdrücklich verweisen. Von ihren Ergebnissen sei nur erwähnt, daß sowohl im Herz-Lungenpräparat wie am Langendorfschen Präparat, wie im Blutdruckversuch gezeigt werden konnte, daß das Sympatol in hohem Maße geeignet ist, die negativ inotrope Wirkung des Chinidins weitgehend zu kompensieren.

In der Folge möge nun das Wichtigste von den eigenen Versuchen mitgeteilt werden.

I. Versuchsreihe.

Ermittlung der tödlichen Chinidindosis und ihre Beeinflussung durch Sympatol im Experiment an der Katze (Registrierung des arteriellen und Vorhofdrucks)*.

In Abständen von 5—10 Minuten wurden 2—10 mg Chinidin sulfur. injiziert. Die tödliche Dosis wurde im Durchschnitt bei 21,6 mg pro kg

Abb. 1a. 17. Juni 1938, Katze 1,8 kg, 80 mg Chloralose pro kg. Arteriendruck in mm Hg, Vorhofsdruck in mm H_2O, Zeit in Min. ▼ 10 mg Chinid. sulf. injiziert.

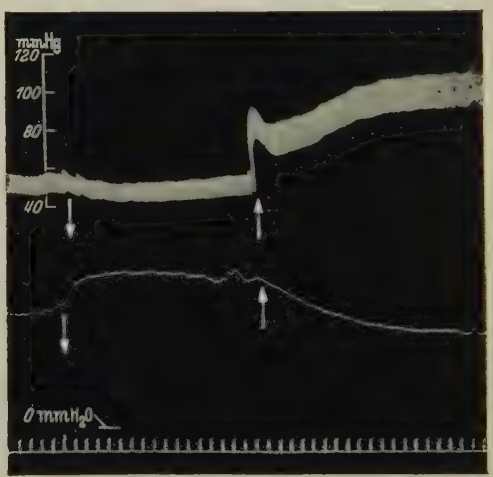


Abb. 1b. 17. Juni 1938, Katze 2,35 kg, 80 mg Chloralose pro kg, ▼ Injektion von 6 mg Chinid. sulf. ▲ Injektion von 10 mg . ympatol.

Tier gefunden. Das Verhalten des arteriellen und Venendrucks nach den Injektionen wird weiter unten an Hand einer Kurve gezeigt. Die entgiftende Wirkung des Sympatols gegenüber dem Chinidin wurde geprüft:

* Näheres über die Versuchsanordnung siehe in den Arbeiten von Gremels.

1. In Versuchen, in denen nach mehrmaligen Chinidingaben (drei bis vier von je 6 mg) Sympatol injiziert wurde (2 mal 10 mg). Auf den vorhergehenden Kurvenstücken ist der Blutdruckabfall und der Vorhofdruckanstieg nach Chinidin sehr gut zu sehen, ebenso die Umkehrung durch Sympatol. Die tödliche Dosis betrug im Durchschnitt dieser Versuche 33 mg.

Abb. 1a zeigt überzeugend nach 10 mg Chinid. sulfur. einen deutlichen Abfall des arteriellen Drucks und ein Ansteigen des Vorhofdrucks.

Abb. 1b zeigt nach Sympatolgabe (10 mg) starkes Ansteigen des arteriellen und ein ebenso deutliches Absinken des Vorhofdrucks. Auf der gleichen Kurve sieht man — in dem linksseitigen Kurvenstück — das deutliche Ansteigen des Vorhofdrucks mit einer, hier allerdings nur wenig ausgesprochenen, arteriellen Drucksenkung; die Chinininjektion, die das bewirkte, war die letzte (6 mg) von im ganzen vier Injektionen (zu je 6 mg).

Eine, wie mir scheint, wichtige Beobachtung, die ich am freigelegten Herzen machen konnte, möge hier noch kurz erwähnt werden. Wenn man Chinidin in die Vene einspritzt, sieht man alsbald die Herzfrequenz sich verlangsamen, im weiteren Verlauf hat man den Eindruck, daß das Herz an Volumen zunimmt und die Herzkontraktionen nicht mehr so ausgiebig erfolgen, schließlich — im terminalen Stadium — schießen an der Herzoberfläche kleine Blutpünktchen auf, während die Kontraktionen sich immer mehr verlangsamen, zuweilen mit Unregelmäßigkeiten, um schließlich ganz aufzuhören.

2. In Versuchen, in denen Chinidin plus Sympatol zusammen in einer Spritze gegeben wurde (im Verhältnis 10 : 1, 5 : 1, 2 : 1). Die Sympatolwirkung erschien hier noch eindrucksvoller, die tödliche Dosis lag hier noch erheblich höher, nämlich bei 55 mg (allerdings mußte hierfür das Verhältnis 2 : 1 gewählt werden).

II. Versuchsreihe.

Ermittlung der tödlichen Chinidindosis bei Dauerinfusion ohne und mit Sympatol. (Blutdruckregistrierung bei unversehrtem Thorax, um den Verhältnissen beim Menschen möglichst nahezukommen.)

A. Die folgende Tabelle bringt eine Übersicht über die Versuche, in denen die gesamte Chinidindosis pro kg Körpergewicht, die Chinidindosis

Tabelle 1.

Katze Nr.	Gewicht in kg	Gesamte einverleibte Chinid. sulf. Dosis in mg pro kg	Chinid. sulf. in mg pro kg und Stunde	Lebensdauer in Min.
1	2,3	143,6	41,42	207
2	3,7	99,8	39,58	151
3	2,8	98,3	34,28	172
4	2,5	119,5	20,01	357
5	2,8	100,2	19,8	303

pro kg Körpergewicht und Stunde, und die Lebensdauer in Minuten verzeichnet sind.

Aus der Tabelle geht überzeugend hervor, daß Lebensdauer und Infusionsgeschwindigkeit in auffallend strengem Verhältnis stehen, insofern als bei Verringerung der Infusionsgeschwindigkeit auf die Hälfte die Lebensdauer der Tiere auf fast das Doppelte verlängert wird.

B. In den nun zu besprechenden Versuchen sollte entschieden werden, inwieweit durch Zugabe von Sympatol bei den Chinidin-Dauerinfusionen die Lebensdauer der Tiere verlängert wird. Die angewandten Chinidindosen hatten dieselbe Höhe wie in den Versuchen 4 und 5 der vorausgehenden Tabelle. Das Verhältnis Chinidin—Sympatol betrug 1 : 1. Die Einzelheiten sind aus der folgenden Tabelle zu ersehen.

Tabelle 2.

Katze Nr.	Gewicht in kg	Gesamte einverleibte Chinid. sulf. Dosis in mg pro kg	Chinid. sulf. in mg pro kg und Stunde	Lebensdauer in Min.
6	2,55	149,7	20,19	444
7	2,7	123,2	20,05	371
8	2,3	129;1	20,05	386

Auch in diesen Versuchen kommt die günstige Wirkung des Sympatols deutlich zum Ausdruck. Die Lebensdauer der Tiere wird durch Sympatol verlängert und die tödliche Dosis erhöht, wie durch den Vergleich der Zahlen in Tabelle 1 (Fall 4 und 5) mit denen der Tabelle 2 hervorgeht.

Betrachten wir nunmehr das Verhalten des Blutdrucks einmal in den Versuchen mit Chinidindauerinfusionen und dann in denen mit Mischinfusionen (Chinidin-Sympatol), so ergibt sich folgendes Bild:

Ein Abfall des Blutdrucks

A. bei Chinidin nach der

ersten Stunde durchschnittlich um 41 mm Hg
zweiten „ „ „ 26 „ „
dritten „ „ „ 35 „ „

B. bei Chinidin plus Sympatol nach der

ersten Stunde durchschnittlich um 46 mm Hg
zweiten „ „ „ 10 „ „
dritten „ „ „ 11 „ „

Die Zahlen bedürfen keines weiteren Kommentars: Das Sympatol reduziert den Blutdruckabfall ganz überzeugend.

Auf die weiteren Versuche mit Chinidindauerinfusionen und intermittierenden Sympatolstößen soll hier nicht im einzelnen eingegangen werden; indes ist vielleicht die folgende Kurve der Mitteilung wert. Man ersieht aus ihr, daß der durch Chinidin gesenkte Blutdruck (von 164 auf 115 mm Hg) durch mehrfach wiederholte Sympatolinjektionen (6 zu je 20 mg alle 3 Minuten) zu gleichmäßigem Anstieg gebracht werden kann.

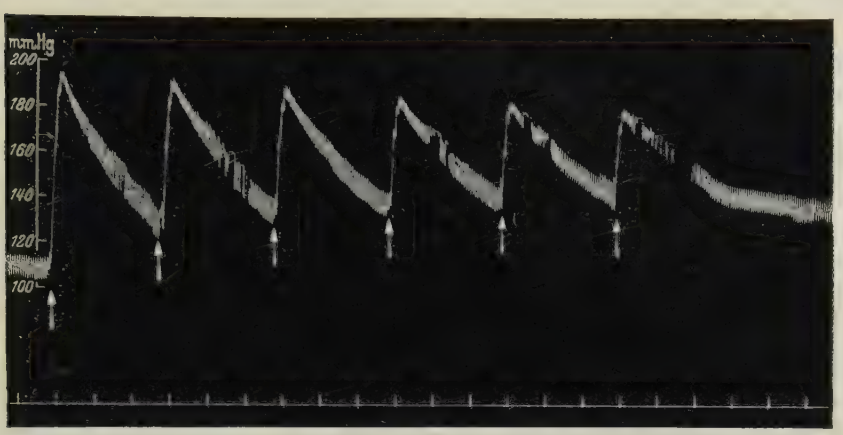


Abb. 2. 31. Oktober 1938, Katze 2,315 kg, 50 mg Chloralose pro kg und 250 mg Urethan pro kg. Arteriendruck in mm Hg, Zeit in Min. Dauerinfusion von Chinid. sulf. 40,8 mg pro kg und Stunde, ↑ jeweils Sympatolininjektionen zu 20 mg.

III. Versuchsreihe.

Untersuchung der Wirkung großer Chinidinstöße ohne und mit Sympatol.

Aufgabe dieser Versuche war es festzustellen, inwieweit das Sympatol schwere, durch große Chinidindosen hervorgerufene Kreislaufstörungen, soweit sie am Blutdruckabfall zum Ausdruck kommen, auszugleichen vermag.

Am besten veranschaulichen sich die Verhältnisse in den Kurven 3

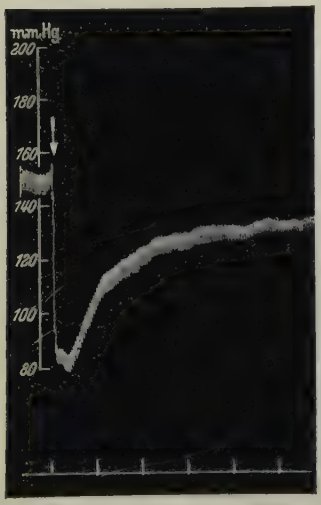


Abb. 3.

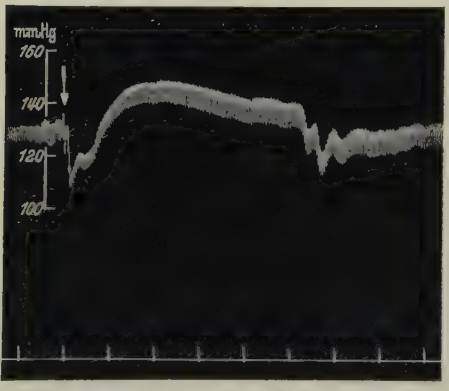


Abb. 4.

7. November 1938, Katze 3,25 kg, 70 mg Chloralose pro kg. Arteriendruck in mm Hg, Zeit in Min.
Abb. 3: ↓ Injektion von 15 mg Chinid. sulf.
Abb. 4: ↓ Injektion von 15 mg Chinid. sulf. und 15 mg Sympatol.

und 4. Kurve 3 zeigt den starken Blutdruckabsturz nach 4,6 mg pro kg, Kurve 4 den wesentlich geringeren Abfall nach der gleichen Menge Chinidin in Kombination mit Sympatol im Verhältnis 1 : 1.

Im Versuch der Kurve 3 betrug der Blutdruckabfall 70 mm Hg, nach 5 Minuten hatte sich der Blutdruck um etwa 53 mm erholt; nach 30 Minuten bewegte er sich immer noch auf dem gleichen Niveau. Im Versuch der Kurve 4 (Chinidin plus Sympatol) ist der Blutdruckabfall erheblich geringer, sofort nach Erreichung des tiefsten Punktes erfolgt der Wiederanstieg bis über den Ausgangswert hinaus.

Überblickt man im Zusammenhang die im vorstehenden geschilderten Versuche, so glauben wir aus ihnen herauslesen zu dürfen, daß Sympatol in der Tat in hohem Maße geeignet ist, dem schädigenden Einfluß des Chinidins auf Herz und Kreislauf entgegenzuwirken. Es kann hier im einzelnen nicht erörtert werden, ob und inwieweit die Versuche es erlauben, in dem starken Blutdruckabfall nach Chinidin eine reine Herzwirkung zu sehen, oder ob hierbei eine mehr oder minder starke Gefäßreaktion mit im Spiele ist. Daß das Chinidin das Herz selbst schwer schädigt, ist längst bekannt und die lebensverlängernde Wirkung des Sympatols in den Versuchsreihen I und II läßt die Schutzwirkung des Sympatols sehr deutlich zum Vorschein kommen.

Die Ergebnisse der Arbeiten von Anitschkow und Sakussow werden damit weitgehend bestätigt. Darüber hinaus glauben wir, unseren Versuchen einige wertvolle Fingerzeige für die kombinierte Anwendung von Chinidin und Sympatol beim Menschen entnehmen zu können: Der gleichmäßige Einstrom von Chinidin, wie er in der peroralen Darreichung beim Menschen verwirklicht ist, ist durchaus zweckmäßig; weiter empfiehlt sich die gleichzeitige Darreichung von Chinidin und Sympatol, schließlich darf nach unseren Experimenten die Sympatoldosis, wenn sie genügend wirksam sein soll, nicht zu klein gewählt werden.

Auf die, während des Niederschreibens dieser Arbeit, erschienene Veröffentlichung von Konzett kann hier nicht näher eingegangen werden. Auch in den Versuchen dieses Forschers kommt die Erholung des durch Chinidin gesenkten Blutdrucks durch Sympatol sehr überzeugend zum Ausdruck.

Literatur.

Gremels, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **169**, 689 (1933); **179**, 360 (1935); **182** (1936). — Anitschkow u. Sakussow: Z. exper. Med. **88**, Jahrg. 1933. — Konzett: Wien. klin. Wschr. **1939**, Nr. 2.

Aus dem Physiologischen Institut der Universität Lausanne.

Venenwirkung kreislaufaktiver Pharmaca.

Von

R. Domenjoz und A. Fleisch.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 22. April 1939.)

Die therapeutischen Möglichkeiten zur Beeinflussung des Kreislaufes haben in den letzten Jahren stark zugenommen, nicht zuletzt durch die immer wachsende Zahl neuer Pharmaca. Diese Neueinführungen von Arzneimitteln haben den Zweck, die Therapie zu verfeinern und zu spezialisieren, d. h. ihren Angriff auf Teilvorgänge des Kreislaufgeschehens zu lokalisieren. So differenziert die Pharmakologie die zentralnervös angreifenden von den peripher angreifenden Kreislaufmitteln, und die letzte Gruppe gliedert sich weiter in die Herzmittel und die Vasotonica, die ihren Angriff an verschiedenen Orten des peripheren Kreislaufs entfalten. Eine solche Differenzierung entspringt nicht nur einem therapeutischen Bedürfnis, sondern sie liefert auch die physiologische Grundlage für das Verständnis des Wirkungsmechanismus. Kreislaufinsuffizienz kann durch das Versagen ganz verschiedener Teilfaktoren ausgelöst werden und dementsprechend muß die kausale Therapie eine differenzierte, auf den insuffizienten Faktor gerichtete sein. Aus diesem Grunde ist es notwendig, daß die kreislaufwirksamen Pharmaca in ihrer Wirkung auf die verschiedenen Teilfaktoren untersucht werden. Die pharmakologische Analyse der Gesamtwirkung ist für die meisten Stoffe in reichem, und zum Teil überreichem Maße ausgeführt worden in bezug auf die direkte Herzwirkung und die Beeinflussung des Blutdrucks. Die dabei festgestellten Effekte auf arteriellen und venösen Druck, Schlagvolumen usw. stellen den summarischen Ausdruck einer Interferenz zahlreicher und komplexer Mechanismen dar. Pharmaca mit verschiedenen Angriffspunkten, wie den vasomotorischen Zentren, den Blutdruckzüglern, dem peripheren Widerstand und dem Venentonus können bei solchen integralen Untersuchungsmethoden gleichsinnige Resultate liefern, ohne daß der wirkliche Angriffspunkt erkannt wird.

Eigene Untersuchungen mit Küchler (7) haben uns gezeigt, daß auf Grund von Registrierungen nur des arteriellen und venösen Druckes überhaupt nichts ausgesagt werden kann über den Wirkungsmechanismus der kreislaufaktiven Substanzen.

Während direkte Herzwirkung und die Wirkung auf den arteriellen Widerstand dank der sehr bequemen und einfachen pharmakologischen Methoden sehr häufig untersucht worden sind, liegen fast gar keine Unter-

suchungen vor, die das Verhalten der Venen zum Ziele haben. Dies liegt sicher darin begründet, daß die Venen ein sehr heikles Organ darstellen, das der serienmäßigen Untersuchung große Schwierigkeiten bietet. Und doch kommt den Venen bei der Entstehung der Kreislaufinsuffizienz eine grundlegende Bedeutung zu, sind sie doch die Organe, welche die Größe des venösen Rückflusses und damit das Blutangebot zum Herzen dosieren. Wir sind der Meinung, daß die Venen funktionell den sogenannten Blutspeichern überlegen sind, wegen der großen Masse Blut, die in ihnen lagert [Fleisch (4, 5)].

Die experimentelle Untersuchung der Venenreaktion erfordert schonendste und subtilste Technik. Falls die gewonnenen Ergebnisse einer Kritik standhalten sollen, muß an dem in Frage stehenden Präparat nachgewiesen sein, daß es sowohl durch Kontraktion als auch durch Dilatation reagieren kann. In vielen Fällen ist ein Venenpräparat wohl noch einer konstriktorischen Reaktion fähig, aber es hat die Fähigkeit der Dilatation bereits verloren. Die Möglichkeit einer konstriktorischen Reaktion bleibt selbst der überlebenden, isolierten Vene noch viele Stunden erhalten, aber diese einzige Reaktionsmöglichkeit spiegelt nicht die physiologischen Verhältnisse wieder. Kontraktion läßt sich an jedem Präparat erreichen, aber das Kriterium eines brauchbaren Venenpräparats liegt in seiner Fähigkeit zur Dilatation.

Die widerspruchsvollen Angaben über das pharmakologische Verhalten der Venen erklären sich zum großen Teile aus technischen Gründen. So kommt z. B. Resultaten, die an überlebenden Venen erhalten worden sind, nur eine sehr bedingte Bedeutung zu.

Methodik.

Als Versuchstiere dienten Katzen, die mit Numal-Roche (0,6 ccm pro kg) oder Urethan (1,0 pro kg Körpergewicht) narkotisiert waren. Zur Registrierung des Blutdrucks wurde eine Kanüle in die Art. carotis eingebunden; außerdem wurde die V. jugularis mit einer Kanüle versehen, für eventuell notwendige therapeutische Injektionen. Eine Trachealkanüle ermöglichte die künstliche Beatmung des Tieres. Während des ganzen Versuchs wurde das Tier so weit als möglich in ein thermoregulatorisch auf 37° eingestelltes Ringerbad getaucht. Diese Maßnahme ist notwendig um eine Läsion der Venen durch Austrocknung oder durch Temperaturschwankungen zu vermeiden. Nach Eröffnung der Bauchhöhle wurden die Darmäste der Vena colica abgebunden und die Vene selbst proximal und distal angeschlungen, nachdem die zugeordnete Arterie abgebunden worden war. Die V. colica wird proximal abgebunden und sofort angeschnitten, um jede Dehnung durch Stauung zu vermeiden; in die Schnittstelle wird die Durchströmungskanüle eingebunden. Nun wird die Vene distal durchschnitten und mit der Durchströmung begonnen. Um eine Beeinflussung der Durchströmung durch peristaltische Bewegungen zu vermeiden, wird das gesamte Colon reseziert. Mit Hilfe von Ekarteuren wird das durchströmte Venenstück gegen die übrigen Darmschlingen, besonders auch von Milz und Magen isoliert, um eine mechanische Übertragung der Zwerchfell- und der Darmbewegungen zu verhindern. Bei der ganzen Operation ist auf schonendste Behandlung der Vene zu achten, da jedes Zerren und Dehnen das Präparat unbrauchbar macht.

Als Durchströmungsflüssigkeit wurde Ringerlösung mit einem p_H von 7,3 verwendet. Das Flüssigkeitsreservoir steht auf einem Stativ, so daß die Niveaudifferenz zwischen Reservoirspiegel und Ringerbad innerhalb 0 und 25 cm variiert werden kann. Der Durchströmungsdruck betrug in der Regel 6—15 cm Wassersäule. Die Nährlösung fließt auf zwei Wegen zu einem Dreiweghahn, dessen Ausfluß durch die Druckdifferentialstromuhr von A. Fleisch (6) zum Tier führt. Der Dreiweghahn gestattet das Einführen der zu untersuchenden Substanz in die Nährlösung, ohne daß die Durchströmung beeinflußt wird. Alle Leitungen inklusive Stromuhr sind in das Wärmebad untergetaucht.

Weitere Details bezüglich der Methodik sind bei A. Fleisch (4, 5) nachzulesen, der diese Methode erstmals verwendete.

Histamin.

Bei den meisten Venenpräparaten wurde zunächst die Wirkung von Histamin untersucht, weil von sämtlichen untersuchten Pharmaca nur Histamin eine Venendilatation erzeugte. Wie schon oben angedeutet, ist eine Vene nur dann als voll reaktionsfähig zu betrachten, wenn sie mit Dilatation antworten kann, und für diese Prüfung sind kleinste Dosen von Histamin sehr zweckmäßig. Bekanntlich erzeugt intravenöse Injektion von Histamin neben der arteriellen Drucksenkung auch eine Senkung des venösen Drucks. Die Wirkung auf den venösen Druck scheint aber von der Tierart abhängig zu sein. Fleisch und Küchler (7) finden beim Kaninchen in der Regel Senkung, nur ausnahmsweise einen Druckanstieg; die Katze hingegen reagiert fast immer mit einer Erhöhung des venösen Drucks. Die injizierte Menge ist dafür nicht verantwortlich. Während die arterielle Drucksenkung des Histamins durch seine erschlaffende Wirkung auf Arterien und Kapillaren genügend erklärt ist, scheint das Verhalten des Venendrucks durch verschiedene Faktoren bedingt zu sein. Früher wurde die Drosselwirkung der Lebervenen nach Mautner und Pick, die aber nur beim Hunde zu existieren scheint, als Ursache der venösen Drucksenkung angenommen. Die spezifische Venenwirkung des Histamins ist variabel je nach der Versuchsanordnung. Der Venenring [Franklin (8)], der Venenstreifen [Waterman (20)], Durchströmung der isolierten Vene [Donnegan (3), Inchley (10)] geben in der Regel Kontraktion auf Histaminanwendung. Die wirksamen Konzentrationen sind 1 : 1000000 und größer. Fleisch (5) hat gezeigt, daß künstliche Durchströmung der nervös intakten, in situ belassenen Vene wesentlich andere Resultate ergibt. Unter günstigen Bedingungen geben kleinste Histaminkonzentrationen von 1 : 1000000 bis zu 1 : 1000000000 regelmäßig Dilatation, während höhere Konzentrationen Venenverengerung erzeugen. Bei den mittleren Konzentrationen von 1000000 folgt einer initialen Erweiterung eine sekundäre Kontraktion. Die Ergebnisse unserer Versuchsreihe sind in Tabelle 1 zusammengefaßt. Die Resultate bestätigen die von A. Fleisch früher erhobenen Befunde.

Die quantitative Abnahme der Dilatation bei steigender Konzentration am gleichen Präparat hat ihre Ursache keineswegs in einer toxischen

Tabelle 1. Venenwirkung des Histamins.

Die Zahlen bedeuten die Veränderung des Stromvolumens in %, wobei − Verminderung und + Vermehrung der Stromgeschwindigkeit bedeuten. Die eingeklammerten Ziffern besagen, daß es sich um eine biphasische Reaktion handelt (Dilatation, gefolgt von Kontraktion).

Versuch Nr.	Konzentration				
	1 : 10^5	1 : 10^6	1 : 10^7	1 : 10^8	1 : 10^9
1					+ 12 + 25
2	− 8				+ 15 + 15
3	(+ 5 − 60) (+ 6 − 40) (+ 5 − 50)	(+ 5 − 10)	+ 5	+ 8	+ 12
4	(+ 2 − 5) − 35 − 10 − 20	(+ 5 − 6)	−	+ 5	+ 5
5	− 25 (+ 3 − 50)	(+ 3 − 8) (+ 3 − 3)	+ 3	+ 3	+ 3
7		(+ 3 − 50)	−	+ 5	+ 8 + 5
8, 10, 11	− 30	−	−	+ 5	+ 4 + 10
12	−	− 25	−	−	+ 8
13, 17, 31	− 10 − 30	−	− 13	−	+ 20
34	− 30 − 25 − 25	− 7 − 11			
35	− 29 − 11 − 2 − 17 − 45	−			

Wirkung des Histamins, da wir nach Verabreichung stärkerer Konzentrationen und Wiederapplikation der ursprünglichen, schwächeren Dosis von neuem die Dilatation im alten Ausmaß gefunden haben. Der konstriktorischen Reaktion auf die höheren Konzentrationen scheint dagegen eine Schädigung der Vene zugrunde zu liegen. Bei wiederholter Applikation geht das Ausmaß der Reaktion zurück, selbst wenn dabei die vorhergehende Reaktion vollkommen abgeklungen war und dem Präparat Zeit zur Erholung gelassen wurde.

Unklar ist die Steigerung des venösen Druckes bei der Katze, weil die durchströmte Katzenvene mit Dilatation auf Histamin reagiert. Eventuell

spielt die direkte herzhemmende Wirkung des Histamins beim Zustandekommen der venösen Drucksteigerung eine Rolle.

Die Behauptung von Mateef und Schneider (12), daß dem Splanchnicusgebiet eine pathogenetische Bedeutung bei der Blutdrucksenkung nach Histamin nicht zukomme, können wir nicht teilen. Tatsächlich erzeugt Histamin in kleinsten Dosen, bis 1:10000000, ausgesprochene Erweiterung der Splanchnicusvenen. Bei der bekannten großen Blutfülle des Splanchnicusgebietes kann eine solche Venenerweiterung nicht gleichgültig für die Höhe des Blutdrucks sein.

Veritol.

Von dem in den letzten Jahren sehr häufig untersuchten Veritol wird einheitlich angegeben, daß es die arterielle Seite tonisiert, wenn auch wesentlich weniger als Adrenalin [Rein (14, 15), Mügge (13), Schneider und Kopp (19), Zipf (21)]. Die Hauptwirkung des Veritols wurde im allgemeinen zurückgeführt auf seinen Effekt auf die Speicherorgane und das venöse System, doch liegen darüber experimentelle Befunde nur für die Milz vor. Diese verkleinert sich unter Veritolwirkung [Rein (14), Zipf (21)]. Nach einer einzigen Beobachtung von D. Schneider (18) an einem Patienten während einer Operation soll sich die Leber unter Veritolwirkung kontrahieren, Zipf hingegen gibt eine Vergrößerung der Leber an. In bezug auf die direkte Venenwirkung des Veritols liegen überhaupt keine experimentellen Befunde vor. Rein hat beobachtet, daß nach der intravenösen Injektion von Veritol ein stoßweiser Mehrverbrauch von Sauerstoff eintritt. Er schließt daraus auf die Beatmung von mobilisiertem venösem Blut, und er folgert weiter, daß somit Veritol zu einer Entspeicherung des Blutes führen müsse. Grosse-Brockhoff und Kaldenberg (9) schließen sich auf Grund klinischer Beobachtungen dieser Interpretation an. Da das ursächliche Moment der Blutdrucksteigerung durch Veritol nicht in der Erhöhung der peripheren Widerstände, und somit in einer Drosselung des arteriellen Abflusses, sondern in einer Erhöhung des Minutenvolumens durch Entspeicherung von venösem Blut gesucht wird, ist es von besonderem Interesse, diese Entspeicherung tatsächlich experimentell nachzuweisen und nicht nur indirekt zu folgern. Ein solcher Entspeicherungsvorgang durch Veritol kann entweder auf reflektorischem Wege über das Venomotorenzentrum oder vom Karotissinus aus erfolgen, oder aber durch einen direkten peripheren Angriff erzeugt sein. Dieses letztere Problem ist Gegenstand unserer Untersuchung, deren Resultate in Tabelle 2 zusammengestellt sind.

Wie aus Tabelle 2 hervorgeht, reagieren von 8 Katzen 6 einheitlich mit Venenkontraktion, wobei das Stromvolumen bis um 25% abnimmt. Die wirksame Grenzkonzentration beträgt 1:10000000 und eine Verdünnung von 1:1000000 wirkt schon regelmäßig stark venenkontrahierend. Ge-

Tabelle 2. Venenwirkung des l-Veritols.
(Erklärung siehe Tabelle 1.)

Versuch Nr.	Konzentration 1:10^5	1:10^6	1:10^7	Versuch Nr.	Konzentration 1:10^5	1:10^6	1:10^7
14		— 12	7(?)	19	— 20	— 14	—
		— 6				— 18	
		— 8		21	— 10	— 7	— 5
15	— 30	— 3	— 10	44	— 21	— 9	— 5
	— 30	— 15				— 12	— 7
		— 5				— 20	— 4
17	— 11	— 4	—			— 12	— 4
	— 5	— 10		47	— 40	— 14	— 3
18	— 25	— 25	— 5				
		— 12	— 10				

legentlich sieht man auf Veritol eine kurzdauernde, schwache Venendilatation, die dann gefolgt ist von einer stärkeren, langdauernden Venenkontraktion. Da die Dilatation nur wenige Sekunden dauert, legen wir ihr kein weiteres Gewicht bei.

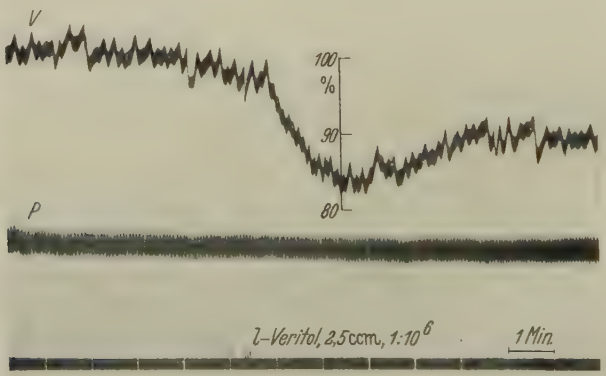


Abb. 1. Künstliche Durchströmung der Vena colica einer Katze. Die Nullinie des Stromvolumens ist wegen Raumersparnis nach oben verschoben. Die relative Größe des Stromvolumens ist aus der beigesetzten Skala zu ersehen. V = Stromvolumen, P = Blutdruck. Beim Signal Injektion von 2 ccm l-Veritol 1 : 10^6 in die Durchströmungsbahn.

Wir haben am gleichen Präparat d- und l-Veritol vergleichsweise untersucht, aber keine klare Differenz zwischen den beiden optischen Isomeren gefunden.

Damit ist zum ersten Male experimentell gezeigt worden, daß Veritol schon in Konzentrationen von 1 : 10000000 mit großer Regelmäßigkeit Venenkontraktion erzeugt und damit zu einer Entspeicherung von venösem Blut führt.

Adrianol und Sympatol.

Die tonisierende Wirkung dieser beiden Körper auf das arterielle System ist seit langem gut bekannt. Erwähnung verdient vielleicht, daß das Adrianol stärker arterienkontrahierend wirkt als das Sympatol. Untersuchungen über die Venenwirkung dieser beiden Körper liegen unseres Wissens nicht vor.

Wie aus Tabelle 3 hervorgeht, wirkt Adrianol schon in Konzentrationen von 1 : 100000000 venenkontrahierend, bei Konzentrationen von 1 : 1000000 und höheren sind die erzielten Reaktionen außerordentlich

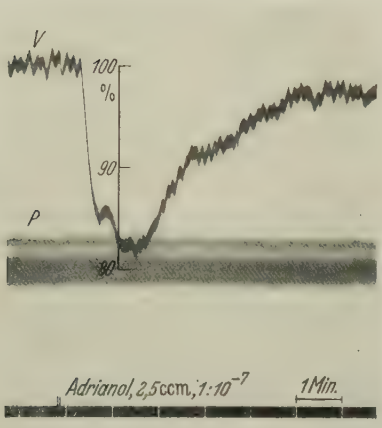


Abb. 2. Erklärung siehe Abb. 1. Beim Signal Injektion von 2,5 ccm Adrianol 1 : 10^7 in die Durchströmungsbahn.

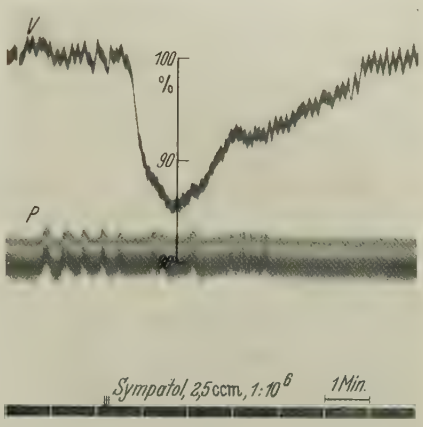


Abb. 3. Erklärung siehe Abb. 1. Beim Signal Injektion von 2,5 ccm Sympatol 1 : 10^6 in die Strombahn.

Tabelle 3. Venenwirkung von Adrianol und Sympatol.
(Erklärung siehe Tabelle 1.)

Adrianol.

Nr.	Konzentration				
	1 : 10^5	1 : 10^6	1 : 10^7	1 : 10^8	1 : 10^9
48	— 90	— 9	— 2	— 6	—
		— 50	— 2		
		— 72	— 22		
		— 75	— 16		
49	— 50	— 4	— 1	— 2	—
	— 95	— 8	— 2	— 2	
		— 50		— 2	
		— 78			
50		— 9	— 19	— 23	— 4
		— 50	— 35	— 11	
		— 33	— 93	— 9	
		— 95		— 11	
				— 25	

Sympatol.

Nr.	Konzentration			
	$1:10^5$	$1:10^6$	$1:10^7$	$1:10^8$
18	— 50	— 28	— 5	—
19	— 30	—	—	—
20	— 12	— 4	— 6	—
49	— 7	— 3 — 3	—	—
50	— 30 — 36	— 19 — 5 — 2	— 8	—
51		— 5 — 18 — 15 — 18 — 16 — 14	— 2 — 6	—

stark. Die Stromgeschwindigkeit durch die Venen verringert sich unter Umständen auf 5% des ursprünglichen Wertes.

Im Vergleich zum Adrianol wirkt Sympatol bedeutend schwächer. Erstens müssen die Dosen 10—15mal größer sein und auch dann sind die Effekte weniger stark. Abb. 3 gibt ein Beispiel einer Sympatolwirkung auf die künstlich durchströmte Vena colica.

In bezug auf die Wirkungsstärke sei vergleichsweise das Adrenalin herangezogen. Dieses wirkt wesentlich stärker venenkontrahierend als Sympatol. Seine Wirkungsstärke ist mindestens ebenso groß wie die von Adrianol, vielleicht sogar etwas größer.

Ciba 2020. 2- (3′, 4′, 5′-Trimethoxybenzyl)- imidazolin.

Zu den hochwirksamen Substanzen gehört das Präparat Ciba 2020, das sich durch seine konstante venokonstriktorische Wirkung auszeichnet. 1 : 10000000 wirken bereits regelmäßig schwach venenkontrahierend und eine Konzentration von 1 : 1000000 bewirkt Verminderung des venösen Durchflusses um 10—60%, wie aus Tabelle 4 hervorgeht.

Ephedrin, Pseudoephedrin, m-Oxyephedrin, Suprifen.

Über die Venenwirkung der genannten vier Körper liegen bis heute keine Untersuchungen vor.

Vom Ephedrin wurden vier verschiedene Isomere untersucht, nämlich: l- und d-Ephedrin und l- und d-Pseudoephedrin. Wie aus der Tabelle 5 hervorgeht, wirkt das l-Ephedrin am stärksten, wesentlich schwächer das d-Ephedrin und noch etwas schwächer die beiden Pseudoephedrine.

Tabelle 4. Venenwirkung von Ciba 2020.
(Erklärung siehe Tabelle 1.)

Nr.	Konzentration			
	1 : 10^5	1 : 10^6	1 : 10^7	1 : 10^8
13	— 20 — 8	— 8 — 10	+ 8 (?)	—
14	— 30 — 10 — 5	— 12 (+ 5 — 5) — 12 — 8	— 8 — 10	—
15	— 40 — 50 — 45 — 25	— 4 (+ 8 — 4) — 30	—	—
16	— 40 — 25	— 10 — 25 — 25	—	—
17	— 60 — 70	— 30	— 8 — 9	—
18	— 80	— 60	— 12	— 10
47	— 45	— 22	— 5	—

O. Schaumann hat am Laewen-Trendelenburgschen Präparat und Csepai und Doleschall an klinischen Versuchen festgestellt, daß Ephedrin auf der arteriellen Seite bzw. auf den Blutdruck fast unwirksam ist, aber die Gefäße für Adrenalin sensibilisiert in dem Sinne, daß an sich unwirksame Dosen Adrenalin nach Ephedrinverabreichung deutliche bis starke Effekte erzeugen. Wir haben untersucht, ob das gleiche Phänomen für die Venen ebenfalls existiert, aber nichts derartiges feststellen können. Wenn wir zuerst Ephedrin und dann Adrenalin geben und umgekehrt, oder auch wenn beide Substanzen gleichzeitig verabreicht werden, so konnte keine Wirkungssteigerung fest-

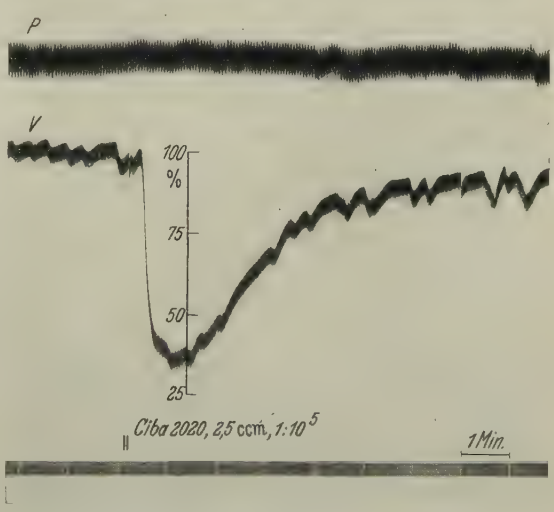


Abb. 4. Erklärung siehe Abb. 1. Beim Signal Injektion von 2,5 ccm Ciba 2020 1 : 10^5 in die Strombahn.

Tabelle 5. Venenwirkung von Ephedrin, Pseudoephedrin und m-Oxyephedrin. (Erklärung siehe Tabelle 1.)

Substanz und Anzahl der Versuche	Konzentration 1 : 10^5	1 : 10^6	1 : 10^7	Substanz und Anzahl der Versuche	Konzentration 1 : 10^5	1 : 10^6	1 : 10^7
l-Ephedrin 8	— 7	(+2 —2)	—	d-Pseudo-ephedrin 6	— 2	— 1	— 7
	— 7	— 5			(+1 —3)	— 2	
	— 8	— 6			— 3	— 4	
	— 8	— 6			— 4	— 4	
	— 9	— 11			— 5	— 19	
	— 10	— 11			— 5		
	— 15	— 15			— 10		
	— 18				— 19		
	— 18						
	— 19			l-m-Oxy-ephedrin 4	— 9	— 2	— 2
	— 22				— 19	— 5	— 5
	— 23				— 26	— 12	— 8
d-Ephedrin 4	— 4	— 3	—		— 41	— 13	
	— 5	— 4			— 60	— 15	
	— 7				— 90		
	— 8						
	— 10			dl-m-Oxy-ephedrin 4	— 5	— 4	— 2
	— 13				— 10	— 4	— 5
					— 12	— 4	
l-Pseudo-ephedrin 3	— 5	— 2	—		— 17	— 9	
	— 5	— 4			— 50	— 21	
	— 10						

Tabelle 6. Venenwirkung des l-Suprifens. (Erklärung siehe Tabelle 1.)

Versuch Nr.	Konzentration 1 : 10^5	1 : 10^6	1 : 10^7	Versuch Nr.	Konzentration 1 : 10^5	1 : 10^6	1 : 10^7
31	—	(+2 —12)	—	43	— 14	— 5	—
41	— 4	— 6	— 2		— 9		
		— 1			— 25		
42	— 5	(+2 — 32)	3	44	— 10	— 2	—
	— 22	— 4				— 5	
	— 11	— 17		53	— 18	—	—
	— 10						

gestellt werden. Tabelle 6 gibt Aufschluß über die Wirksamkeit des l-Suprifen, das in Konzentrationen von 1 : 100000 deutliche Venenkontraktionen auslöst.

Andere adrenalinverwandte Körper.

Es wurde noch eine Reihe anderer Substanzen untersucht, deren venokonstriktorische Wirkung in Tabelle 7 zusammengefaßt ist.

Erwähnung verdient, daß Körper wie Pervitin und Benzedrin, die vorwiegend wegen ihrer zentralnervös erregenden Wirkung gegeben werden, doch auch eine deutliche Venenwirkung besitzen.

Tabelle 7. (Erklärung siehe Tabelle 1.)

Substanz und Anzahl der Versuche	Einzelwerte aller erzielten Reaktionen bei Konzentration von 1:10^5	1:10^6	1:10^7
Benzedrin	— 2	— 11	0
4	— 13	— 11	0
	— 20	— 12	— 2
		— 12	— 5
		— 16	
d-Pervitin	— 11	— 3	0
4	— 16	— 6	0
	— 20	— 9	— 7
	— 32	— 29	
	— 43	— 34	
	— 45	— 35	
		— 39	
dl-Pervitin	— 18	— 7	— 15
4	— 20	— 11	—
	— 24	— 14	
	— 33	— 14	
	— 34	— 30	
d-(1)-Phenyl-(2)-dimethylamino-methyl-äthan	— 7	0	0
	— 11	0	
	— 19	— 2	
4	— 22	— 4	
		— 9	
dl-(1)-Phenyl-methyl-(2)-methyl-amino-äthan	— 19	— 3	0
	— 27	— 3	
	— 30	— 28	
3	— 36		
Tyramin	— 7	0	0
7	— 7	— 7	— 3
	— 8	— 12	— 5
	— 12	— 12	
	— 14	— 22	
	— 15	— 36	
	— 22	— 45	
	— 25	— 48	
dl-p-Oxy-nor-Ephedrin	— 17	— 4	0
	— 18	— 18	— 2
3	— 33		
	— 35		
dl-m-Oxy-nor-Ephedrin	— 80	— 12	— 2
	— 82	— 16	— 3
4	— 98	— 18	— 6
		— 22	— 6
		— 25	
dl-m-Oxyphenyl-amino-butanol	— 17	— 3	— 2
		— 4	
3		— 12	
dl-3, 4-Dioxyphenyl-propylamino-propanol	— 4	— 2	— 5
		— 2	— 7
		— 7	— 9
5		— 8	
		— 12	
		— 30	
l-Corbasil	— 29	— 5	— 3
4	— 55	— 6	— 12
	— 90	— 16	— 17
		— 45	— 19
		— 90	
		(10^{-8} = — 6)	
d-Corbasil	— 12	— 9	— 9
3		— 23	— 18
dl-Corbasil	— 28	— 5	— 1
5		— 19	— 2
		— 39	— 14
		— 45	— 35
		— 50	

Da Tyramin in Beziehung gebracht wird zum blassen Hochdruck, verdient seine venokonstriktorische Wirkung in Dosen von 1 : 1000000 Beachtung.

Die Beziehung zwischen chemischer Konstitution und venokonstriktorischer Wirkung.

Die eingehende Untersuchung von 20 verschiedenen, chemisch aber verwandten Körpern erlaubt uns, eine quantitative Beziehung aufzustellen zwischen chemischer Konstitution und Venenwirkung. Zu diesem Zwecke haben wir in der Tabelle 8 die Namen der geprüften Substanzen samt ihrer chemischen Formel aufgeführt.

Vergleichen wir zunächst einmal die vier Gruppen: Benzolderivate, p-Phenolderivate, m-Phenolderivate und Dioxybenzolderivate. Die Benzolderivate sind wirksam ab Konzentrationen von $1 : 10^6$, ausnahmsweise auch bis zu Konzentrationen von $1 : 10^7$. Die maximalen Wirkungsstärken liegen bei $1 : 10^5$ und erreichen etwa 25% Venenkontraktion. Vergleichen wir damit die Gruppe der p-Phenolderivate, die mit „a" bezeichnet sind. Die notwendige Grenzkonzentration dieser Gruppe ist eher etwas geringer und beträgt häufiger $1 : 10^7$ als $1 : 10^6$. Die in Prozent ausgedrückten Reaktionsstärken bei den Konzentrationen von $1 : 10^6$ und $1 : 10^5$ sind nicht wesentlich verschieden von der Gruppe der Benzolderivate.

Nach diesem Überblick über die Gesamtgruppe wollen wir noch Körper vergleichen mit identischer Seitenkette. Wenn in das Pervitin (Nr. 2) eine OH-Gruppe in der Para-Stellung eingeführt wird, so erhält man das Veritol (2a). Das Veritol ist eine Spur wirksamer als das Pervitin, indem das Veritol fast regelmäßig bei $1 : 10^7$ wirksam ist, währenddem das Pervitin, sowohl die d- als auch die racemische Form, nur ausnahmsweise bei $1 : 10^7$ wirksam ist, meistens hingegen eine Konzentration von $1 : 10^6$ braucht, um wirksam zu werden. In bezug auf Wirkungsstärke bei höheren Dosen, $1 : 10^6$ und $1 : 10^5$, ist kaum ein Unterschied zwischen Pervitin und Veritol vorhanden. Wenn in das Ephedrin die OH-Gruppe in der Para-Stellung eingeführt wird, erhält man das Suprifen (5a). Beide Körper sind ungefähr identisch wirksam.

Zusammenfassend können wir feststellen, daß durch das Einführen einer OH-Gruppe in die Para-Stellung die notwendige Grenzkonzentration etwas geringer wird, daß aber im übrigen die Wirkungsstärke dadurch nicht nennenswert verändert wird.

Wird hingegen die OH-Gruppe in die Meta-Stellung eingeführt, so ist die notwendige Grenzkonzentration wesentlich kleiner und zudem ist bei höheren Konzentrationen die Wirkungsintensität sehr viel größer. Bei den m-Phenolderivaten ist die Grenzkonzentration $1 : 10^7$ und eventuell wie beim Adrianol sogar $1 : 10^8$. Ferner werden in dieser Gruppe stärkste Venokonstriktionen erzielt, so daß sich das Durchflußvolumen um 90% verringert. Vergleichen wir speziell die Körper mit identischer Seitenkette, Ephedrin (5) und m-Oxyephedrin (5b). Die Grenzkonzentration für Ephedrin (5) ist $1 : 10^6$. Durch die Einführung der OH-Gruppe in Para-Stellung [Suprifen (5a)] wird diese Grenzkonzentration nicht verändert. Sitzt aber die OH-Gruppe in der m-Stellung wie beim m-Oxyephedrin (5b), so sinkt die Grenzkonzentration auf $1 : 10^7$ und zudem steigt die Wirkungsstärke bei höheren Konzentrationen an.

Vergleichen wir ferner Sympatol (8a) mit Adrianol (8b). Sympatol wirkt bei $1 : 10^7$, Adrianol, das in der m-Stellung oxydiert ist, hingegen bei $1 : 10^8$ bis $1 : 10^9$. Die maximale Wirkungsstärke von Sympatol beträgt 25%, während diejenige von Adrianol 90% Venenkontraktion erzeugt. Vergleichen wir noch das p-Oxy-nor-Ephedrin (9a) mit dem m-Oxy-nor-

Tabelle 8. Chemische Konstitution und venokonstriktorische Wirkung. Die Zahlen bedeuten die Verminderung des Stromvolumens in %. In der Kolonne „wirksam ab" wurden die noch deutlich wirksamen Grenzkonzentrationen eingetragen. In den Kolonnen $1:10^7$, $1:10^6$ und $1:10^5$ sind die mittleren Wirkungsstärken angegeben. Die Zahlen sind das arithmetische Mittel aus den Mittelwerten der einzelnen Versuche. Die Substanzen mit gleicher Ordnungszahl haben gleiche Seitenketten; die der Ordnungszahl zugeordneten Buchstaben deuten auf die Stellung der phenolischen OH-Gruppe hin. (a = para-, b = meta-, c = di-Oxybenzole).

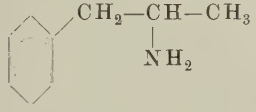
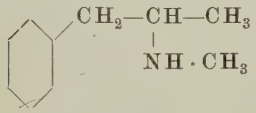
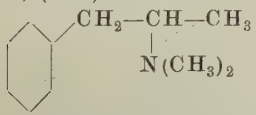
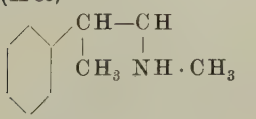
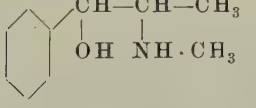
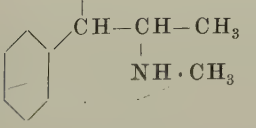
		Wirksam ab	Mittelwerte der Reaktionen bei Konzentrationen von		
			$1:10^7$ %	$1:10^6$ %	$1:10^5$ %
A. Benzolderivate:					
1. Benzedrin 		$10^{-6}-10^{-7}$	1,5—2	13	16
2. Pervitin, d-, dl-, (HCl) 	d-	$10^{-6}-10^{-7}$	2,3	15	25
	dl-	$10^{-6}-10^{-7}$	5	15	25
3. (1)-Phenyl-(2)-dimethyl-amino-methyläthan, d-, (HCl) 		10^{-6}		4,3	15
4. (1)-Phenyl-methyl-(2)-methylamino-äthan, dl-, (HCl) 		10^{-6}		16	28
5. Ephedrin, l-, d-, (HCl) 	l-	10^{-6}		8	13
	d-	$10^{-5}-10^{-6}$		1,3	8
6. Pseudoephedrin, l-, d-, (HCl) 	l-	$10^{-5}-10^{-6}$		2	7
	d-	$10^{-6}-10^{-7}$	2,3	4,5	8

Tabelle 8. (Fortsetzung.)

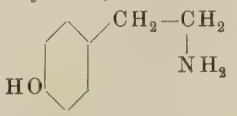
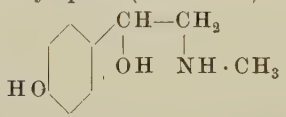
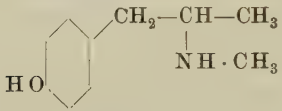
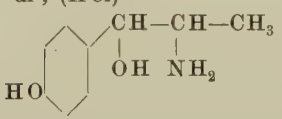
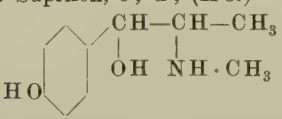
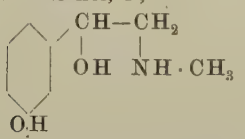
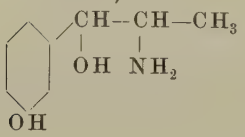
	Wirksam ab	Mittelwerte der Reaktionen bei Konzentrationen von		
		1 : 10^7 %	1 : 10^6 %	1 : 10^5 %
B. p-Phenolderivate:				
7a. Tyramin, rac 	10^{-6}—10^{-7}	2,6	16	14
8a. Sympatol (weins. Salz) 	10^{-7}	6	10	25
2a. Veritol, l-, d-, dl-, (sulf.) l- d- dl- 	10^{-7}	6	13	28
9a. p-Oxy-nor-Ephedrin, dl-, (HCl) 	10^{-6}—10^{-7}	1	11	23
5a. Suprifen, l-, d-, (HCl) l- d- 	10^{-6}		6	9
C. m-Phenolderivate:				
8b. Adrianol, l- 	10^{-8}—10^{-9}	21	45	90
9b. m-Oxy-nor-Ephedrin, dl, (HCl) (im Icoral enthalten) 	10^{-7}	4	19	90

Tabelle 8. (Fortsetzung.)

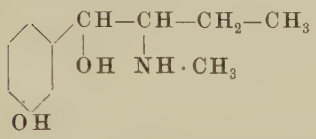
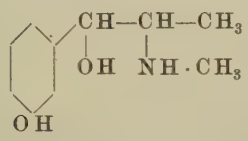
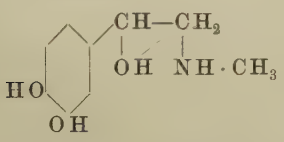
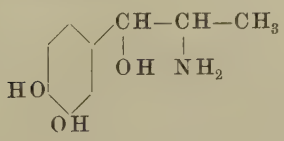
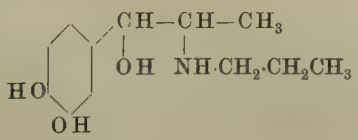
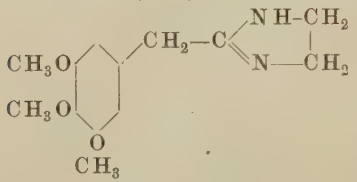
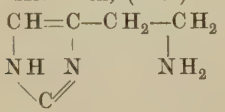
		Wirksam ab	Mittelwerte der Reaktionen bei Konzentrationen von		
			1 : 10^7 %	1 : 10^6 %	1 : 10^5 %
10b. m-Oxyphenyl-aminobutanol, dl-, (HCl) 		10^{-6}—10^{-7}	2	6	17
5b. m-Oxy-Ephedrin, dl-, l-, (HCl) 	l-	10^{-7}	3,5	7	20
	dl-	10^{-6}—10^{-7}	4	13	40
D. Dioxyphenolderivate:					
8c. Adrenalin 		10^{-7}—10^{-8}	10 17 13	40	
9c. Corbasil, l-, d-, (HCl), dl-Base 	l-	10^{-8}	7	29	58
	d-	10^{-7}—10^{-8}		27	
	dl-			16	28
5c. 3, 4-dioxyphenyl-propyl-amino-propanol, dl-, (HCl) 		10^{-7}	7	11	

Tabelle 8. (Fortsetzung.)

	Wirksam ab	Mittelwerte der Reaktionen bei Konzentrationen von		
		1 : 10^7 %	1 : 10^6 %	1 : 10^5 %
E. Imidazolabkömmlinge:				
11. Ciba 2020, (HCl) 	10^{-7}	5	32	44
12. Histamin, (HCl) 	Dilat. 10^{-9} Kontr. 10^{-6}		18	26

Ephedrin (9b). Auch hier steigt durch das Verschieben der OH-Gruppe aus der p- in die m-Stellung die Wirkungsstärke an und die Grenzkonzentration wird kleiner.

Wird der Benzolkern sowohl in der m- als auch in der p-Stellung oxydiert, so erfolgt keine nennenswerte Veränderung mehr gegenüber den m-Oxyderivaten; die Grenzkonzentrationen bleiben dieselben und auch die Wirkungsintensitäten bei höheren Dosen, wie aus dem Vergleich der Gruppen C und D hervorgeht. Es scheint im Gegenteil, daß durch das Einführen beider OH-Gruppen eine leichte Abnahme der Wirksamkeit stattfindet, wie dies aus dem Vergleich von Adrenalin (8c) und Adrianol (8b) hervorgeht. Es ist wahrscheinlich, daß diese Abnahme auf der leichteren Zerstörbarkeit der Dioxyderivate beruht; tatsächlich ist Adrenalin viel leichter zerstörbar als Adrianol.

Beachtung verdient der Vergleich zwischen Stoff Ciba 2020 (11) und Histamin (12). Die Substanz Ciba 2020 ist chemisch eine Kombination von Histamin und Trimethoxybenzyläthan. Während Histamin in Konzentrationen von 10^6 bis 10^7 ab regelmäßig venenerweiternd wirkt, erzeugt dieses Präparat immer Venenkontraktion. Der Histaminanteil tritt also in seiner Wirkung zurück gegenüber der kontrahierenden Wirkung der Oxybenzole.

Zusammenfassend können wir sagen, daß durch das Einführen einer OH-Gruppe in p-Stellung eine schwache Zunahme der venokonstriktorischen Wirkung eintritt. Wenn die OH-Gruppe hingegen in der m-Stellung eingeführt ist, wird die venokonstriktorische Wirkung mindestens verzehnfacht und die Effekte sind zudem viel ausgesprochener. Die Oxydation sowohl

in m- und p-Stellung hingegen bewirkt keine wesentliche Änderung der Wirksamkeit gegenüber der Oxydation in der m-Stellung, nur sind die Dioxykörper labiler geworden und werden somit durch den Organismus rascher abgebaut.

Untersuchen wir jetzt den Einfluß, den die Konfiguration der Seitenkette auf die venokonstriktorische Wirkung ausübt. Betrachten wir zunächst die Substitution an der Aminogruppe. Vergleichen wir m-Oxy-nor-Ephedrin (9b) und m-Oxyephedrin (5b). Der letztere Körper, der in der Aminogruppe methyliert ist, wirkt deutlich schwächer als der erstere. Die gleiche Beobachtung machen wir bei p-Oxy-nor-Ephedrin (9a) und Suprifen (5a). Auch hier findet eine deutliche Abschwächung der venokonstriktorischen Wirkung durch die Methylierung der Aminogruppe statt. Auch wenn die Propylgruppe an die Aminogruppe angehängt wird, findet eine Abschwächung der Wirkung statt, wie aus dem Vergleich von Corbasil (9c) und 3, 4-Dioxyphenyl-propyl-aminopropanol (5b) hervorgeht. Nicht zu dieser Regel paßt die Wirkungsstärke von Benzedrin (1) und Pervitin (2). Hier scheint die Methylierung der Aminogruppe ohne Einfluß zu sein. Wenn hingegen zwei Methylreste in die NH_2-Gruppe eingeführt werden, wie beim l-Phenyl-2-dimethylamino-methylmethan (3), so wird der Effekt deutlich abgeschwächt.

Zusammenfassend stellen wir also fest, daß durch das Einführen von einem oder zwei Methylradikalen oder des Propylrestes in die Aminogruppe die venokonstriktorische Wirkung abgeschwächt wird.

Die Konfiguration, namentlich die Länge der Seitenkette, ist ebenfalls von Einfluß. Vergleichen wir die Körper 8b, 9b und 10b, wobei die Seitenkette von der zweigliedrigen zur dreigliedrigen und schließlich bei 10b zur viergliedrigen verlängert wird. Hierbei nimmt die Wirkung mit der Verlängerung progressiv ab. Die gleiche Erscheinung beobachten wir beim Sympatol (8a) im Vergleich zum Suprifen (5a). Interesse verdient noch die Gegenüberstellung von Pervitin (2) und der Substanz Nr. 4. Beim Pervitin ist die CH_3-Gruppe endständig, bei dem Präparat Nr. 4 hingegen ist sie an das erste C-Atom angelagert; hierdurch scheint die physiologische Wirksamkeit in geringem Grade abgeschwächt zu werden.

Unsere Untersuchungen haben sich auch zum Teil auf die optischen Isomeren erstreckt, ohne daß wir wesentliche Unterschiede in der Wirksamkeit feststellen konnten. Beim Ephedrin (5) und beim Corbasil (9c) wirkt die l-Form etwas stärker. Beim Pseudoephedrin (6) hingegen ist die d-Form eher etwas aktiver. Beim m-Oxyephedrin erweist sich die racemische Form stärker als die l-Form, woraus ebenfalls auf ein Überwiegen der des d-m-Oxyephedrins zu schließen ist. Beim Veritol konnten wir keine Unterschiede zwischen den beiden Isomeren feststellen.

Diese Befunde über chemische Konstitution und venokonstriktorische Wirkung entsprechen ziemlich weitgehend den Resultaten von Loewi und Meyer (11), Barger und Dale (1), O. Schaumann (16, 17). Die

genannten Autoren untersuchten die sympaticomimetische Wirkung adrenalinartiger Stoffe, gemessen an ihrem Effekt am Froschgefäßpräparat, an Eingeweiden und an ihrer Blutdruckwirksamkeit. Nach O. Schaumann wird die sympathicomimetische Wirkung durch Oxydation in p-Stellung deutlich verstärkt, während wir, was die venokonstriktorische Wirkung anbelangt, kaum eine Zunahme feststellen konnten.

Die Oxydation in m-Stellung steigert nach Schaumann die sympathicomimetische Wirkung stark, wie wir das auch für die venokonstriktorische Wirkung feststellen. Die doppelte Oxydation in m- und p-Stellung bringt nach Barger und Dale den maximalen Effekt in bezug auf Blutdruck und Eingeweidewirkung hervor. In bezug auf die venokonstriktorische Wirkung ist die doppelte Oxydation nicht stärker als die einfache in m-Stellung, sondern eher etwas schwächer, wahrscheinlich wegen der schnelleren Zerstörbarkeit der Dioxyphenole.

Loewi und Meyer haben schon 1905 gezeigt, daß die sympathicomimetische Wirkung abgeschwächt wird, wenn der Wasserstoff an der Aminogruppe einfach oder doppelt substituiert wird. Die gleichen Änderungen beobachten wir in bezug auf die venokonstriktorische Wirkung.

Kuschinsky gibt an, daß die Methylsubstituierung in der Seitenkette verantwortlich ist für eine Tachyphylaxie, also eine Wirkungsabschwächung bei wiederholter Applikation. Diese „Methylsubstituierung" bedeutet schließlich nichts anderes als das, was wir als Verlängerung der Seitenkette bezeichnet haben und von der wir festgestellt haben, daß sie die venokonstriktorische Wirkung vermindert. Barger und Dale haben festgestellt, daß die optimale Wirkung der zweigliedrigen Seitenkette zugehört, und auch wir können bestätigen, daß bereits bei der dreigliedrigen Seitenkette eine Wirkungsabnahme zu verzeichnen ist.

Zusammenfassung.

Vom Kreislauf isolierte, aber nervös intakte Eingeweidevenen von Katzen werden in situ künstlich durchströmt und die Stromgeschwindigkeit fortlaufend optisch registriert. Der Durchströmungsflüssigkeit werden Wirkstoffe zugesetzt, um ihre direkte Wirkung auf die Venen festzustellen.

Es wurden im ganzen 20 adrenalinverwandte Körper, und zum Teil auch deren optische Isomere, auf ihre direkte Venenwirkung untersucht und Beziehungen zwischen chemischer Konstitution und venokonstriktorischer Wirkung aufgestellt.

Am schwächsten wirken Derivate mit nicht oxydiertem Benzolkern. Oxydation des Benzolkerns in der p-Stellung bewirkt eine schwache Verstärkung der venokonstriktorischen Wirkung. Oxydation in der m-Stellung verstärkt die Wirkung wesentlich. Die Dioxybenzolderivate wirken nicht stärker, sondern eher etwas schwächer als die m-Phenolderivate, wahrscheinlich weil die Dioxybenzole weniger stabil sind.

Die Substitution an der Aminogruppe vermindert die venokonstriktorische Wirkung; doppelte Substituierung schwächt mehr ab als einfache.

Die zweigliedrige Seitenkette ist am stärksten wirksam; Verlängerung der Seitenkette schwächt die Wirkung ab.

Es gelten somit in bezug auf die venokonstriktorische Wirkung annähernd die gleichen Gesetze, wie sie für die Beziehung zwischen chemischer Konstitution und sympathicomimetischer Wirkung aufgestellt worden sind.

Literatur.

1) Barger, G., u. H.H. Dale: J. Physiol. (Brit.) **41**, 19. — 2) Csepai u. Doleschall: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **131**, 109. — 3) Donegan, J.F.: J. Physiol. (Brit.) **55**, 226. — 4) Fleisch, A.: Pflügers Arch. **225**, 26. — 5) Ebenda **228**, 351. — 6) Fleisch, A.: Die Wasserstoffionenkonzentration als peripher regulatorisches Agens der Blutversorgung. Jena, Fischer, 1921. — 7) Fleisch, A., u. W. Küchler: Arch. intern. Pharmacodynam., im Erscheinen begriffen. — 8) Franklin, K. J.: J. Pharmacol. (Am.) **26**, 215. — 9) Grosse-Brockhoff, F., u. Kaldenberg: Klin. Wschr. **1937**, S. 948. — 10) Inchley, O. J.: J. Physiol. (Brit.) **61**, 282. — 11) Loewi, O., u. H. Meyer: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **53**, 213. — 12) Mateeff, D., u. M. Schneider: Pflügers Arch. **236**, 606. — 13) Mügge, H.: Klin. Wschr. **1937**, S. 1241. — 14) Rein, H.: Ebenda **1937**, S. 700. — 15) Rein, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **187**, 617. — 16) Schaumann, O.: Ebenda **138**, 208. — 17) Ebenda **160**, 127. — 18) Schneider, D.: Klin. Wschr. **1937**, S. 736. — 19) Schneider, H., u. H. Kopp: Ebenda **1937**, S. 1672. — 20) Watermann, L.: Arch. Neerl. Physiol. **15**, 545. — 21) Zipf, K.: Klin. Wschr. **1937**, S. 1340.

Aus der Medizinischen Klinik der Universität Göttingen
(Direktor: Prof. Dr. Schoen)
und dem Pharmakologischen Institut der Universität Köln
(Direktor: Prof. Dr. J. Schüller).

Über den Einfluß der B_2-Avitaminose auf Schilddrüse, Hypophysen-Vorderlappen und Nebenniere.

Von

Ernst Schulze und Gerhart Hundhausen.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 24. April 1939.)

In früheren Untersuchungen konnten wir zeigen[1], daß es bei Fehlen von Vitamin B_1 zu einer Ruhigstellung der Schilddrüse kommt, und daß diese Inaktivierung durch einen verminderten Gehalt des Hypophysenvorderlappens (HVL) an thyreotropem Hormon (th. H.) bedingt ist. In vorliegender Arbeit untersuchten wir, ob bei Fehlen von Vitamin B_2 Veränderungen an der Schilddrüse bzw. am HVL nachzuweisen sind. Nach Arbeiten von Verzar und Laszt[2] und Hoen und Oehme[3] vermag Vitamin B_2 das Nebennieren-Rindenhormon zu vertreten und die Nebennieren-Hypertrophie, die bei experimenteller Hyperthyreose auftritt, zu verhindern. Ob daneben ein unmittelbarer Angriff von Vitamin B_2 an der Schilddrüse oder dem übergeordneten HVL ähnlich dem von Vitamin B_1 besteht, ist noch nicht klargestellt. Wir untersuchten deshalb den Einfluß der B_2-Avitaminose auf Schilddrüse und Hypophysenvorderlappen.

Methodik.

Als Versuchstiere gebrauchten wir 20 junge weiße Ratten im Gewicht von 70—90 g. Die Tiere wurden nach einer kurzen Vorperiode auf die von Chick und Roscoe[4] angegebene Kostform gesetzt. Das Casein dieser Diät war nach den besonderen Vorschriften von Sherman-Spohn[5] gereinigt worden. Die Mischung wurde täglich frisch bereitet unter Zusatz von 1% offizinellen Lebertrans. Vitamin B_1 erhielten die Tiere in Form von Betaxin (Bayer). Jeder Ratte wurde täglich 0,05 ccm des in Ampullen abgefüllten Präparates (10 Tauben-E. = etwa 10 bis 20 R. T. D.) subcutan injiziert. Um den Tieren Vitamin B_4* zuführen zu können,

[1] Hundhausen u. Schulze: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 570 (1939). — [2] Verzar u. Laszt: Pflügers Arch. **237**, 476, 483 (1936). — [3] Hoen u. Oehme: Klin. Wschr. **1938**, I, S. 452. — [4] Chick u. Roscoe: Zit. nach Bomskov: Methodik der Vitaminforschg. **1935**. S. 169. — [5] Sherman-Spohn: Zit. nach Bomskov, l. c., S. 201.

* Das von Reader [Biochem. J. **23**, 689 (1929); **24**, 1127, 1827 (1930)] entdeckte Vitamin B_4 ist nach György [Z. physiol. Chem. **223**, 236 (1934)] bei Versuchen mit Vitamin B_2 erforderlich, da bei Kostformen, die außer Vitamin-B_2-frei auch Vitamin-B_4-frei sind, keine Reaktion der Gewichtskurve nach Vitamin-B_2-Zulage erfolgt. Es sei hinzugefügt, daß die Bedeutung des Vitamins B_4 nach den neuen Untersuchungen von Kinnerley, O'Brien u. Peters [Biochem. J. **29**, 210 (1935)] sehr fraglich erscheint.

stellten wir uns ein aus Hefe gewonnenes Konzentrat des Vitamins selber dar. Wir bedienten uns dabei der Eigenschaft des Vitamins B_4, mit Merkurisulfat eine Fällung zu geben. Die Aufarbeitung erfolgte im einzelnen nach der von Bomskov[6] beschriebenen Methode.

Bei einem Ausgangsmaterial von etwa 2,3 kg Hefe hatten wir eine Ausbeute von 22 ccm des B_4-Konzentrats, das wir nunmehr den Tieren in einer Dosierung von 0,05 ccm jeden zweiten Tag injizierten.

10 der auf diese Kost gesetzten und derart behandelten Ratten erhielten zusätzlich noch je 0,1 ccm Lactoflavin (Bayer) täglich subcutan injiziert (12,5 RE.). Die übrigen 10 Tiere ohne Lactoflavinzulage stellten die B_2-Avitaminosegruppe dar.

Die Tiere waren zu je 5 in geräumigen Käfigen untergebracht, in denen ihnen Koprophagie unmöglich gemacht war. Als Kontrolle diente noch eine Gruppe von 10 jungen Ratten derselben Sendung, die bei Normalkost auf das Endgewicht der Versuchstiere gebracht wurden.

Die Dauer des Versuchs wurde nach dem Verhalten der Avitaminosegruppe bestimmt. Nachdem die Tiere 14 Tage auf demselben Gewicht beharrt hatten, wurden sie durch Nackenschlag getötet. Wir entnahmen die Hypophysen steril, wogen sie, verrieben sie in wenig physiologischer Kochsalzlösung und injizierten diese Aufschwemmung infantilen Meerschweinchen (150—175 g) intraperitoneal. Jedes Empfängertier erhielt insgesamt zwei Hypophysen in Abständen von 24 Stunden einzeln zugeführt. Nach weiteren 24 Stunden wurde das Meerschweinchen getötet und wir untersuchten seine Schilddrüse, deren Tätigkeitszustand als Maß für die thyreotrope Wirksamkeit der zugeführten HVL angesehen wurde, histologisch. Ebenfalls histologisch untersucht wurden die Schilddrüsen der Versuchsratten selber; sie wurden zudem zusammen mit den Nebennieren dieser Tiere gewogen.

Entsprechende Behandlung erfuhren die Lactoflavin- und die Kontrollgruppen. Den Tätigkeitszustand der Rattenschilddrüse beurteilten wir nach F. Kampelmann[7], die Meerschweinchenschilddrüse nach den von Heyl und Laqueur[8] angegebenen Kriterien.

Versuchsergebnisse.

Auf der beschriebenen B_2-freien Kost gediehen die Tiere ausgezeichnet. Auch als gegen die dritte Woche des Diätregims der für die B_2-Avitaminose charakteristische Gewichtsstillstand eintrat, konnte äußerlich nichts Krankhaftes am Aussehen oder Verhalten der Ratten bemerkt werden. Abb. 1 gibt die Gewichtskurven der Versuchstiere wieder.

Die histologische Auswertung der B_2-avitaminotischen Rattenschilddrüsen nach ihrem Aktivitätszustand ergab keinen Unterschied gegenüber der Kontrollgruppe mit Lactoflavinzulage und den Normaltieren. In Übereinstimmung mit unseren früheren Ergebnissen waren im Mittel die Schilddrüsen der Normaltiere etwas weniger aktiv als der Stufe III entsprach. Ihr Mittelwert errechnete sich zu 3,15; der Mittelwert der Lactoflavingruppe zu 3,30; der der Avitaminosegruppe zu 3,35. Die Verteilung

[6] Bomskov: l. c., S. 239. — [7] Kampelmann, F.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **184**, 141 (1937). — [8] Heyl u. Laqueur: Arch. internat. Pharmacodynam. **49**, 338 (1934).

der einzelnen Werte bei den drei Gruppen zeigt Abb. 2. In Tabelle 1 sind die Befunde von Schilddrüse, Nebennieren und Hypophyse der 10 B_2-avitaminotischen Ratten im einzelnen mitgeteilt, in Tabelle 2 und Tabelle 3 die einzelnen Befunde für die 10 Kontrolltiere mit Lactoflavinzulage und für 10 Normaltiere.

Der Gehalt des HVL der B_2-avitaminotischen Tiere an th. H. zeigte nach Übertragung der Hypophysen auf infantile Meerschweinchen gegenüber

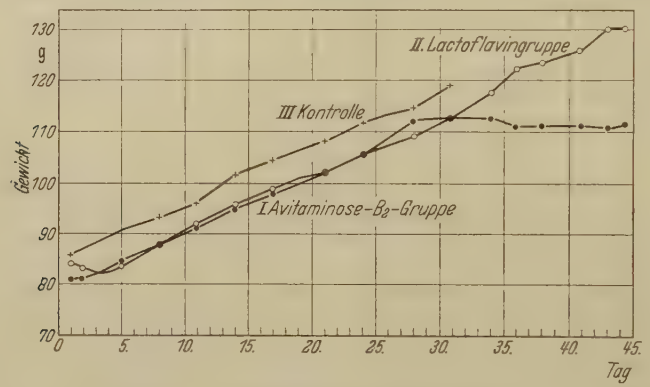


Abb. 1. Gewichtskurven der Versuchstiere.
I. ●——● Avitaminose-B_2-Gruppe. II. ⊙——⊙ Lactoflavingruppe. III. +——+ Kontrolle.

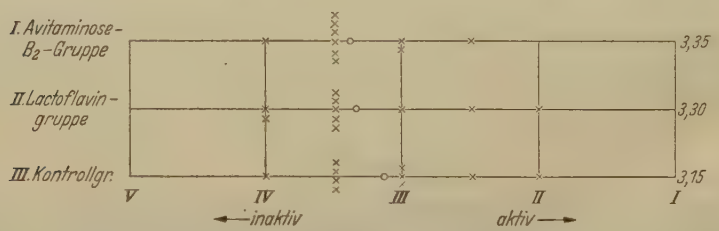


Abb. 2. Tätigkeitszustand der Rattenschilddrüsen.
× Einzeltiere. ○ Mittelwert der Gruppe (am rechten Rand in Zahlen ausgedrückt).

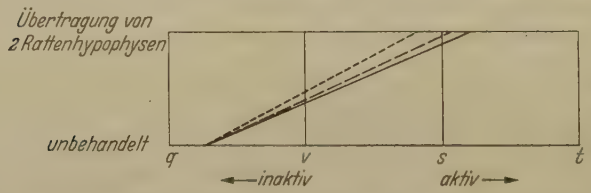


Abb. 3. Veränderungen der Meerschweinchenschilddrüse nach Übertragung von Hypophysen normaler und auf B_2 freie Kost — mit und ohne Lactoflavinzulage — gesetzter Ratten.
- - - - - B_2-Avitaminose. — — — Lactoflavingruppe. ——— Kontrollgruppe.

der Lactoflavingruppe und Normaltieren keine nennenswerte Veränderung. Die Aktivierung der Meerschweinchenschilddrüse durch HVL der Avitaminosegruppe war fast ebenso stark wie durch die Lactoflavingruppe und

Tabelle 1. B_2-avitaminose Gruppe.

Ratte Nr.	Anfangskörpergewicht in g	Endkörpergewicht in g	Gewicht der Nebennieren in mg	Tätigkeitszustand der Schilddrüsen	Gewicht der Schilddrüsen in mg	Gewicht der Hypophyse in mg	Meerschweinchen, dem die beiden vorstehenden Hypophysen übertragen wurden	Tätigkeitszustand der Schilddrüsen der Meerschweinchen	Gewicht der Schilddrüsen in mg
46 ♂	80	105	24	III	12	6,5	Ms 115	(v)/s	38
41 ♀	70	100	23	III/IV	13	9,5			
47 ♀	95	120	28	III	14	7	Ms 116	s	39,5
44 ♂	80	110	24,5	III/IV	12	7			
48 ♀	75	125	31	III/IV	11	9	Ms 117	v/s	34
43 ♂	90	105	22	III/IV	9,5	5			
49 ♂	75	120	22	III/IV	11	5	Ms 118	s	41
42 ♂	85	110	28	III/IV	10	5			
50 ♂	90	115	23	IV	11,5	5,5	Ms 119	s	33
45 ♀	70	105	30	II/III	16	8			

Tabelle 2. Lactoflavingruppe.

Ratte Nr.	Anfangskörpergewicht in g	Endkörpergewicht in g	Gewicht der Nebennieren in mg	Tätigkeitszustand der Schilddrüsen	Gewicht der Schilddrüsen in mg	Gewicht der Hypophyse in mg	Meerschweinchen, dem die beiden vorstehenden Hypophysen übertragen wurden	Tätigkeitszustand der Schilddrüsen der Meerschweinchen	Gewicht der Schilddrüsen in mg
61 ♀	90	135	29	III	10	8	Ms 120	s/(t)	43
70 ♂	85	125	28	II/III	13	5,5			
62 ♂	80	130	31	IV	12	6,5	Ms 121	(v)/s	37
66 ♂	100	140	34	III/IV	10	6			
63 ♀	80	130	27,5	III/IV	14	9	Ms 122	s	44
69 ♂	70	120	32	III/IV	15	9			
64 ♀	85	130	24	II	13,5	8	Ms 123	s/t	41
67 ♂	90	130	28	III/IV	16	8,5			
65 ♂	70	125	23	IV	11	5	Ms 124	(v)/s	44
68 ♀	80	130	31	III/IV	11	7			

Tabelle 3. Kontrollgruppe.

Ratte Nr.	Anfangskörpergewicht in g	Endkörpergewicht in g	Gewicht der Nebennieren in mg	Tätigkeitszustand der Schilddrüsen	Gewicht der Schilddrüsen in mg	Gewicht der Hypophyse in mg	Meerschweinchen, dem die beiden vorstehenden Hypophysen übertragen wurden	Tätigkeitszustand der Schilddrüsen der Meerschweinchen	Gewicht der Schilddrüsen in mg
51 ♂	90	125	28	III/IV	14,5	5	Ms 110	*s*	42
57 ♂	90	120	29	III	12	6			
52 ♂	95	125	26	II/III	10,5	6,5	Ms 111	*s*	46,5
56 ♂	70	105	31	IV	9	5,5			
53 ♀	80	120	24,5	III	12	6	Ms 112	*s*/(*t*)	39
59 ♂	80	110	23,5	III/IV	14,5	6			
54 ♀	75	115	33	II	16	8,5	Ms 113	*s*/(*t*)	37
60 ♂	100	130	27	III	11,5	7,5			
55 ♀	90	120	30,5	III/IV	10	9	Ms 114	(*v*)/*s*	39,5
58 ♀	85	125	34	III/IV	11	9,5			

Tabelle 4. Organgewichte von Ratten in mg (Mittelwerte)*.

Behandlung der Ratten	Schilddrüsengewichte in mg	Tätigkeitszustand der Schilddrüsen	Hypophysengewicht in mg	Nebennierengewicht in mg
I. B_2-Avitaminose . .	12,1 ± 1,2	III, 35	6,7 ± 1,1	25,5 ± 2,0
II. Lactoflavin	12,5 ± 1,3	III, 30	7,2 ± 0,9	28,7 ± 2,0
III. Kontrolle	12,1 ± 1,4	III, 15	6,9 ± 1,0	28,6 ± 2,0

Tabelle 5. Gewicht von Meerschweinchenschilddrüsen in mg nach Übertragung von Rattenhypophysen (Mittelwerte)*.

Behandlung der Spendertiere	Schilddrüsengewichte der Empfängertiere in mg	Tätigkeitszustand der Schilddrüsen der Empfängertiere
I. B_2-Avitaminose . .	57,1 ± 3,0	(*v*)/*s*
II. Lactoflavin	41,8 ± 2,6	*s*
III. Kontrolle	40,8 ± 3,2	*s*

* Die Werte ± geben den doppelten mittleren Fehler an. Unterschiede, die größer als die doppelten mittleren Fehler sind, sind signifikant. Vgl. Hundhausen u. Schulze, l. c., S. 578.

Normaltiere. Die normalerweise recht inaktive Schilddrüse der infantilen Meerschweinchen, welche unbehandelt einen Tätigkeitszustand zeigt, der etwa der Stufe *q* entspricht, wurde im Mittel durch HVL aller drei Gruppen auf Stufe *s* aktiviert. Eine Übersicht über die Mittelwerte der Gruppen in Beziehung zum Ausgangswert *q* gibt Abb. 3.

Die histologische Auswertung wurde durch die Ergebnisse der gravimetrischen Untersuchung bestätigt. Tabelle 4 und 5 geben einen Vergleich zwischen den mittleren Gewichten von Schilddrüse, Hypophyse, Nebennieren der drei Gruppen und der histologischen Bewertung der Spender- und Empfänger-Schilddrüsen. Es zeigte sich, daß entsprechend dem histologischen Befund, die Gewichte von Schilddrüse und Hypophyse B_2-avitaminotischer Spendertiere wie auch die Schilddrüsengewichte der Empfängertiere nicht von den Kontrolltieren unterschieden waren. Dagegen waren die Nebennieren B_2-avitaminotischer Ratten in ihrem Gewicht deutlich kleiner, wenn der Unterschied zu den Kontrollgruppen auch nicht direkt signifikant war. Es läßt dies immerhin auf eine verminderte Nebennierenfunktion bei B_2-Mangel schließen. Nach den Befunden von Verzar und Laszt ist Nebennieren-Rindenhormon bei nebennierenlosen Tieren ohne Vitamin B_2 wirkungslos. Es ist daher bei Mangel von Vitamin B_2 eine Verminderung der Funktion der Nebennierenrinde zu erwarten, womit unsere Befunde übereinstimmen.

Unsere Untersuchungen ergeben an Schilddrüsen und Hypophysen keinen Unterschied in der Aktivität zwischen B_2-avitaminotischen und normalen Ratten. Dagegen ist eine Gewichtsverminderung der Nebennieren festzustellen. In dem System Schilddrüse-Hypophyse-Nebenniere hat Vitamin B_2 einen unmittelbaren Angriff nur an der Nebenniere.

Zusammenfassung.

1. B_2-Mangel hat keinen Einfluß auf den Tätigkeitszustand der Schilddrüse.

2. Der Gehalt des Hypophysen-Vorderlappens an thyreotropem Hormon ist bei B_2-Mangel gegenüber der Norm nicht verändert.

3. Die Senkung der Nebennierengewichte B_2-avitaminotischer Tiere läßt auf eine verminderte Funktion der Nebennieren bei B_2-Mangel schließen.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Köln.
(Direktor: Prof. Dr. J. Schüller.)

Über die Beziehungen zwischen Avitaminose-B_1 und gonadotropem Hormon des Hypophysenvorderlappens.

Von

Gerhart Hundhausen.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 24. April 1939.)

B_1-freie Ernährung führt zu einer Verminderung des Gehalts des Hypophysenvorderlappens an thyreotropem Hormon und zu einer entsprechenden Inaktivierung der Schilddrüse [1]. Diese Feststellung bedingt weitere Fragen: Wird durch B_1-freie Ernährung allein das thyreotrope Hormon unter den verschiedenen Hormonen des Hypophysenvorderlappens beeinflußt, oder läßt sich auch für andere Hypophysenhormone eine Verminderung oder Vermehrung feststellen? Uns interessierte hier vor allem das Verhalten des gonadotropen Hormons. Bei der Untersuchung B_1-avitaminotischer Ratten fiel uns auf, daß neben der Gewichtsverminderung der Hypophysen und Schilddrüsen auch die Keimdrüsen und ihre Erfolgsorgane: Samenblasen, Prostata und Uteri signifikante Gewichtsunterschiede gegenüber normalen Kontrollen zeigten, während z. B. die Nebennierengewichte nicht eindeutig unterschieden waren. Die von uns gefundenen Mittelwerte B_1-avitaminotischer Tiere und normaler Kontrollen zeigt Tabelle 1.

Methodik.

Um den Gehalt des Hypophysenvorderlappens an gonadotropem Hormon (gon. H.) zu prüfen und zu vergleichen, folgten wir dem Vorgehen von C. G. Heller, H. Lanson und E. L. Sevringhaus [2], welche den infantilen Rattenuterus als Testobjekt für gonadotrope Substanzen benutzten. Diese Autoren zeigten, daß der Uterusgewichtstest zum Nachweis des gon. H. etwa achtmal empfindlicher ist als der Ovarialtest. Bei dem Uterusgewichtstest wird nach Übertragung von Hypophysen oder anderem gonadotropen Material auf infantile Rattenweibchen, die durch diesen Reiz bedingte Reifung und Gewichtszunahme des Uterus als Kriterium für die Menge wirksamen gon. H. genommen.

---

[1] Hundhausen u. Schulze: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 570 (1939). — [2] Heller, C. G., H. Lanson u. E. L. Sevringhaus: Americ. J. Physiol. **121**, 364 (1938).

Um möglichst einheitliche Verhältnisse zu haben, werden die Hypophysen einer Versuchsgruppe zu einer Emulsion verarbeitet und von dieser Emulsion entsprechende Mengen auf infantile weibliche Ratten übertragen. Zunächst werden nach Tötung der Spendertiere durch Nackenschlag und sofortiger steriler Entnahme und Wägung der Hypophysen diese in einer kleinen Reibschale mit etwas physiologischer Kochsalzlösung möglichst fein zerrieben. Durch Zufügen von weiterer physiologischer Kochsalzlösung wird eine Aufschwemmung bereitet. Die aufgeschwemmten Teilchen werden durch Aufziehen und Ausspritzen mittels einer Spritze mit dünner Nadel weiter zerkleinert und sorgfältig gemischt. Diese Behandlung löst nach den genannten Autoren praktisch alle Zellen und man erhält eine einheitliche Suspension einer bestimmten Konzentration. Von dieser Stammsuspension werden abgestufte Verdünnungen hergestellt, so daß sie, wenn sie in 9 subcutanen Injektionen zu 0,5 ccm (zweimal täglich) während $4\,^1/_2$ Tagen einem Empfängertier gegeben werden, eine Gesamtdosis von bestimmter Menge ergeben, z. B. 0,5, 1,0, 2,5, 5,0 mg Hypophysensubstanz usf. Die fraktionierte Verabreichung des gonadotropen Materials (mindestens

Tabelle 1. Organgewichte normaler und B_1-avitaminotischer Ratten. * = signifikant † unterschiedene Gewichte.

♀ Ratten	Anfangs-Körpergewicht in g	End-Körpergewicht in g	Gewicht der Hypophysen in mg	Gewicht der Schilddrüsen in mg	Gewicht der Nebennieren in mg	Gewicht der Ovarien in mg	Gewicht der Uteri in mg
Normal (6)	248	252	$15{,}9 \pm 2{,}14$*	$21{,}1 \pm 4{,}08$*	$68{,}4 \pm 10{,}5$	$92{,}8 \pm 28{,}1$*	$612{,}0 \pm 127{,}0$*
B_1-Avitaminose (13)	211	127	$8{,}6 \pm 1{,}38$*	$14{,}4 \pm 1{,}62$*	$53{,}7 \pm 6{,}12$	$47{,}4 \pm 7{,}08$*	167 ± 137*
♂ Ratten	Anfangskörpergewicht in g	Endkörpergewicht in g	Gewicht der Hypophysen in mg	Gewicht der Schilddrüsen in mg	Gewicht der Nebennieren in mg	Gewicht der Teste in mg	Gewicht der Samenblasen und Prostata in mg
Normal (6)	183	228	$6{,}9 \pm 1{,}11$	$16{,}6 \pm 1{,}85$*	$33{,}6 \pm 6{,}18$	$2330{,}0 \pm 492{,}0$	$2060{,}0 \pm 462{,}0$*
B_1-Avitaminose (12)	213	123	$5{,}9 \pm 0{,}97$	$12{,}3 \pm 2{,}07$*	$37{,}6 \pm 4{,}38$	$1710{,}0 \pm 226{,}0$	$541{,}0 \pm 169{,}0$*

† Signifikante Unterschiede liegen jenseits der doppelten mittleren Fehlerbreiten (± 2 m). Vgl. Hundhausen u. Schulze, l. c., S. 578.

zweimal täglich) bewirkt eine viel stärkere und gleichmäßigere Uterusvergrößerung als einmalige tägliche Injektion der gleichen Menge. Die Suspensionen werden bei 4° C aufgehoben.

Die Empfängertiere, infantile weibliche Ratten, sollen ein Körpergewicht von 35—45 g haben und sind unter hiesigen Verhältnissen dann etwa 4 Wochen alt. Für jeden Test werden 3—4 Tiere benötigt, welche die gleiche Dosis erhalten. Die Injektionen werden am Abend der Spenderautopsie begonnen und jeden Morgen und Abend fortgesetzt, bis 9 Injektionen erreicht sind. Die Autopsie der Empfängertiere wird am Morgen nach der letzten Injektion durchgeführt. Der Uterus wird von der Vagina mittels Schnitt durch die Cervix und von den Eileitern an ihrer Ansatzstelle am Uterushorn isoliert. Der Uterus wird aufgeschnitten und die Flüssigkeit im Uterushohlraum auf Fließpapier ausgepreßt und jeder Uterus gewogen.

Die erhaltene Uterusgewichtskurve verläuft nicht linear. Von einer bestimmten Menge gonadotroper Substanz an erfolgt ein steiler Anstieg des Uterusgewichts bis zu einem Maximum. Eine weitere Steigerung der Dosis bewirkt, in der gleichen Zeit gegeben, keine weitere Gewichtsvermehrung des Uterus, sondern im Gegenteil eine Abnahme des Uterusgewichts. Anscheinend sind hier Regulationsmechanismen in Wirkung getreten, die bei der Überflutung des Organismus mit gon. H. die Wirkung des Hormons paralysieren. Es kommt also darauf an, zur Auswertung den steilen Schenkel der Kurve zu erfassen, um vergleichbare Werte zwischen gereichter Menge gonadotroper Substanz und bewirkter Uterusvergrößerung zu erhalten.

Versuchsanordnung und Versuchsergebnisse.

Mit der beschriebenen Methode untersuchten wir den Gehalt des Hypophysenvorderlappens B_1-avitaminotischer Tiere und normaler Kontrollen. 11 weibliche Albino-Ratten im Gewicht von 180—230 g wurden auf die von Kinnersley, Peters und Reader[3] angegebene B_1-freie Kost gesetzt. Sie entwickelten die typischen Beriberi-Symptome. Die Befunde stimmten mit denjenigen unserer früheren Versuche überein[4]. Wie wir bereits in einer anderen Arbeit für das thyreotrope Hormon näher ausgeführt haben[5], könnte auch die Inanition, der die B_1-frei ernährten Tiere allmählich verfallen, die Ursache der Gewichtsverminderung der Keimdrüsen und ihrer Erfolgsorgane sein, so daß schon allein verminderte Nahrungszufuhr zu einer verminderten Produktion von gon. H. im Hypophysenvorderlappen führt. Wir untersuchten deshalb gleichzeitig, welchen Einfluß verminderte Nahrungszufuhr auf den Gehalt des Hypophysenvorderlappens an gon. H. hat. 7 weibliche Albino-Ratten im Gewicht von 160—220 g, alle vom gleichen Züchter wie die Tiere der B_1-Avitaminose-

[3] Kinnersley, Peters u. Reader: Ref. Bomskov: Methodik der Vitaminforschg. 1935. — [4] Hundhausen u. Schulze: l. c., S. 573. — [5] Hundhausen: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **192**, 634 (1939).

gruppe und die normalen Kontrollen, wurden auf die gleiche Kost wie die Beriberi-Tiere gesetzt, die jedoch durch Zugabe von vollwertiger, Vitamin-B_1-haltiger Hefe zu einer vollwertigen Rattenkost gemacht worden war. Diese Kost wurde im Laufe von 8 Tagen so reduziert, daß jedes der im Einzelkäfig sitzenden Tiere schließlich nur soviel Nahrung zugeführt erhielt, wie die B_1-avitaminotischen Tiere ebenfalls fraßen, d. h. 10,0 g pro Tag und Tier statt 25,0 g pro Tag und Tier, die normale Kontrolltiere des gleichen Körpergewichts zu sich nehmen. 12 weibliche Albino-Ratten dienten als normale Kontrollen. Sie erhielten ebenfalls die durch vollwertige Hefe zur normalen Kost gebrachte Beriberi-Diät und gediehen darauf ausgezeichnet.

Die Versuchsdauer wurde bestimmt durch das Verhalten der Tiere in den einzelnen Gruppen. Die B_1-avitaminotischen Ratten wurden nach 7 Wochen, nachdem sie 42% des Anfangskörpergewichts verloren hatten und typische Erscheinungen der Beriberi wie Krämpfe und ausgeprägte allgemeine Schwäche zeigten, durch Nackenschlag getötet. Dagegen waren die Tiere bei einfacher Kostarmut schon nach 3 Wochen nach einem Gewichtsverlust von 32% des Anfangskörpergewichts so hinfällig, daß der Versuch beendet werden mußte und alle Tiere durch Nackenschlag getötet wurden. Die normalen Kontrollen wurden so lange wie die Beriberi-Tiere auf ihrer normalen Kost belassen. Sie nahmen 27% des Anfangskörpergewichts während der Versuchsdauer zu.

Nach Tötung der Tiere wurden die Hypophysen jeder Versuchsgruppe in der beschriebenen Weise zu einer Emulsion verarbeitet und infantilen weiblichen Ratten im Gewicht von 35–45 g subcutan injiziert. Von den 11 B_1-avitaminotischen Tieren erhielten wir 102 mg Hypophysensubstanz, von den 7 Hungertieren 52 mg und von den 12 normalen Kontrolltieren 150 mg Hypophysensubstanz. Die Stammsuspensionen der verschiedenen Gruppen wurden so verteilt, daß je nach der zur Verfügung stehenden Menge Hypophysensubstanz 3, 4 oder 5 infantile Empfängertiere die gleiche Gesamtdosis erhielten. Es wurden jeweils Gesamtdosen von 0,5, 1,0, 2,5, 5,0, 10,0 und 20,0 mg Hypophysensubstanz während $4^1/_2$ Tagen gegeben. Bei den Hungertieren, wo am wenigsten Hypophysensubstanz zur Verfügung stand, konnten die hohen Dosen von 10,0 und 20,0 mg nur je einem Tier übertragen werden.

Die durch Übertragung des gon. H. des Hypophysenvorderlappens erhaltenen Uterusgewichtskurven gibt Abb. 1 wieder. Der steile Schenkel der Gewichtskurve lag bei Übertragung normaler Hypophysen zwischen 1,0 und 5,0 mg Hypophysensubstanz, mit dem Maximum bei 5,0 mg Verdoppelung und Vervierfachung der Dosis auf 10,0 und 20,0 mg hatte die beschriebene Gewichtsverminderung und ein Abfallen der Gewichtskurve zur Folge. Dosen unter 1,0 mg hatten keinen aktivierenden Einfluß auf die infantilen Uteri. Das gleiche Bild ergab sich bei Übertragung von Hypophysensubstanz von kostarmen Tieren: steiler Gewichtsanstieg der Uteri

zwischen 1,0 und 5,0 mg, Maximum bei 5,0 mg, unter 1,0 mg kein Einfluß. Von den hohen Dosen 10,0 und 20,0 mg standen wegen Mangels an Hypophysensubstanz nur je ein Wert zur Verfügung.

Dagegen war bei den B_1-avitaminotischen Ratten der Gehalt des Hypophysenvorderlappens an gon. H. wesentlich vermindert. Weder 2,5 mg noch 5,0 mg oder sogar 10,0 mg Hypophysensubstanz hatten einen aktivierenden Einfluß auf die infantilen Uteri. Die erhaltenen Uterusgewichte erhoben sich nicht über die von unbehandelten infantilen Ratten. Erst bei

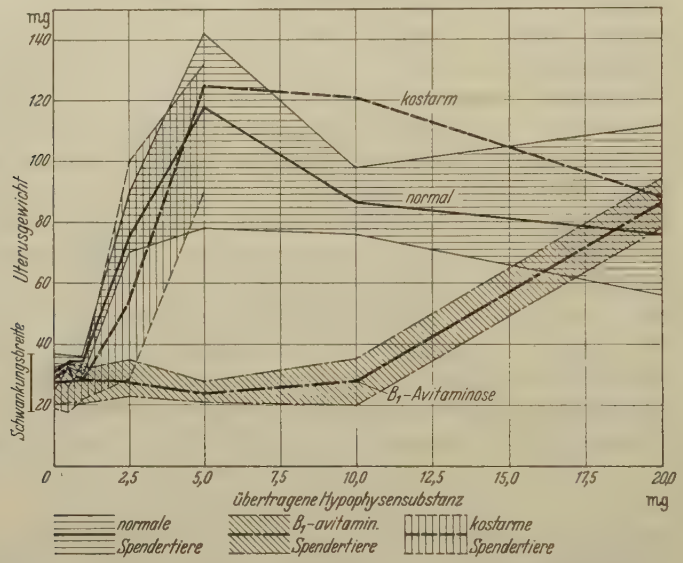


Abb. 1. Dick = Mittelwerte der Gruppe. Dünn = Höchst- und Mindestwerte der Gruppe. Der senkrechte Strich an der Ordinate gibt die Schwankungsbreite der nicht injizierten Kontrolltiere an.

20,0 mg trat eine deutliche Aktivierung der Uteri und Gewichtszunahme auf, so daß die zur Aktivierung infantiler Uteri notwendige Menge gon. H. erst in einer Dosis, welche zwischen 10,0 und 20,0 mg liegt, enthalten ist. Die durch 20,0 mg Hypophysensubstanz B_1-avitaminotischer Ratten hervorgerufene Gewichtszunahme infantiler Rattenuteri wird schon durch eine Menge Hypophysensubstanz von normalen Ratten bewirkt, die zwischen 2,5 und 5,0 mg liegt. Es muß daher der Gehalt des Hypophysenvorderlappens an gon. H. bei B_1-avitaminotischen Ratten nur $^1/_4$ bis $^1/_8$ des Gehalts bei normalen Ratten betragen, also etwa auf $^1/_6$ vermindert sein.

Abb. 1 zeigt die Mittelwerte jeder Dosis (fett gezeichnet) eingeschlossen von den extremen Werten jeder Gruppe. Es geht der Unterschied zwischen dem Uterusgewicht unbehandelter infantiler Tiere und dem Uterusgewicht nach Übertragung des gon. H. normaler Rattenhypophysen, kostarmer Rattenhypophysen und B_1-avitaminotischer Rattenhypophysen deutlich daraus hervor.

Neben der bei B_1-Mangel gefundenen Verminderung des thyreotropen Hormons findet also auch eine Verminderung des gon. H. des Hypophysenvorderlappens statt. Diese ist nicht durch die Inanition der B_1-avitaminotischen Tiere zu erklären, da bei verminderter Nahrungszufuhr ein normaler Gehalt des Hypophysenvorderlappens an gon. H. gefunden wird. Es läßt dies wohl darauf schließen, daß bei Mangel von Vitamin B_1 in der Nahrung keine Einzelfunktionen des Hypophysenvorderlappens gesondert betroffen werden, sondern der Hypophysenvorderlappen in toto gehemmt wird.

Zusammenfassung.

Bei B_1-Avitaminose kommt es neben der Verminderung des Gehalts des Hypophysenvorderlappens an thyreotropem Hormon auch zu einer Verminderung des Gehalts an gonadotropem Hormon.

Aus dem Balneologischen Institut der Hansischen Universität Hamburg in Bad Oeynhausen (Leiter: Prof. Gollwitzer-Meier) und aus der II. Medizinischen Universitätsklinik Hamburg-Eppendorf (Leiter: Prof. Weitz).

Über die Bedeutung der Leber für den Plasmaverlust des Blutes im experimentellen Histamin- und Peptonschock.

Von

E. Lerche und Arnold Weiß.

(Eingegangen am 2. Mai 1939.)

Die Eindickung des Blutes im experimentellen Histamin- und Peptonschock beruht auf einem allgemeinen Plasmaübertritt aus den Blutkapillaren ins Gewebe. Je nach der Art des Versuchstieres findet diese Plasmawanderung vorzugsweise in bestimmten Organen statt. Beim Hund wird in erster Linie die Leber für den Plasmaverlust des Blutes verantwortlich gemacht, da sie dasjenige Organ ist, das unter der Wirkung von Histamin und Pepton sowohl in vivo als auch bei künstlicher Durchströmung auf Grund eines (auch histologisch mehrfach nachgewiesenen[1, 2]) „explosiven" Ödems am meisten an Größe zunimmt[2–7].

Über die Plasmamengen, die hierbei unter Umständen ins Lebergewebe übertreten können, sind wir durch Gewichtsmessungen an der Peptonleber unterrichtet. Manwaring, Hosepian und Beattie, die ihre sämtlichen Gewichtsbestimmungen nach Abzug der in den Lebergefäßen befindlichen Blutmenge durchführten, errechneten aus einer durchschnittlichen Erhöhung des Lebergewichtes um 62 % im Peptonschock einen Plasmaverlust des Gesamtblutes von 11,7 ccm pro kg Körpergewicht. Dem entsprach eine 10%ige Bluteindickung. — An der Histaminleber liegen Gewichtsbestimmungen zwar nicht vor. Doch dürfte nach den histologischen Befunden Eppingers auch hier die in der Leber zurückgehaltene Plasmamenge recht erheblich sein, obwohl die Leberanschwellung im Histaminschock gewöhnlich etwas geringer ausfällt als im Peptonschock [8].

Aus Versuchen von Lamson und Mitarbeitern geht nun aber hervor, daß das Histamin auch bei entleberten Hunden eine deutliche Eindickung

---

[1] Manwaring, W. H., D. French u. Selling Brill: J. Immunol. (Am.) **8**, 211 (1923). — [2] Eppinger, H. u. Mitarbeiter: „Die seröse Entzündung." Berlin, Jul. Springer, 1935. — [3] Mautner, H., u. E. P. Pick: Münch. med. Wschr. **1915**, S. 1141; Naunyn-Schmiedebergs Arch. **142**, 271 (1929). — [4] Manwaring, W. H., V. M. Hosepian u. A. C. Beattie: J. Immunol. (Am.) **8**, 229 (1923). — [5] Baer, R., u. R. Rössler: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **119**, 204 (1927). — [6] Feldberg, W., E. Schilf u. H. Zernik: Pflügers Arch. **220**, 738 (1928). — [7] Frey, E. K., u. H. Kraut: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **133**, 1 (1928). — [8] Feldberg, W., E. Schilf u. H. Zernik: a. a. O.

des Blutes bewirkt[9]. Allerdings verdünnten diese Autoren das Blut zunächst mit Kochsalzlösung um etwa 15% und bestimmten dann die Zeit, in der das verdünnte Blut unter der Wirkung von Histamin bei Hunden mit und ohne Leber seine normale Zusammensetzung wieder erreichte. In beiden Fällen war die Zeit die gleiche! — Nach diesen Versuchen ist anzunehmen, daß die Eindickung des Blutes zumindest im Histaminschock nicht allein durch das Leberödem hervorgerufen wird, sondern gleichzeitig durch einen Plasmaaustritt im Bereich anderer Kapillarbezirke.

Wir haben im folgenden die Frage nach der Bedeutung der Leber für die Eindickung des Blutes im Histamin- und Peptonschock dadurch zu klären versucht, daß wir zunächst an Tieren mit normal durchbluteter Leber die Änderungen des Sauerstoffbindungsvermögens im Blute (als Maß für die Größe des Plasmaverlustes) nach Histamin und Pepton bestimmten und dann die gleichen Versuche an Hunden anstellten, deren Leber durch eine sterile Voroperation aus dem Pfortaderkreislauf ausgeschaltet war (Eckscher Fistel).

Die Technik der Eckschen Fistel.

In der Literatur ist schon mehrfach auf das Prinzip der Operation mit der Fischler-Schröderschen Schneidefadenmethode[10] hingewiesen worden: Vena portae und Vena cava inferior werden in einem Gebiet von 3—5 cm Länge unterhalb der Einmündungstelle der Vena lienalis in die Vena portae durch eine Grundnaht miteinander vereinigt. Alsdann wird von caudal her ein Faden in das Lumen der einen Vene hinein- und cranial wieder herausgeführt, anschließend der gleiche Faden cranial in die andere Vene hinein- und caudal wiederum herausgeleitet, so daß sich Anfang und Ende des Fadens caudal nebeneinander befinden. Bevor die benachbarten Wandstücke von Vena cava und Vena portae mittels dieses Fadens durchsägt werden, muß eine Decknaht zur ventralen Abdichtung der Anastomosenstelle über die Grundnaht gelegt werden.

Da man nun bei dieser Operation erfahrungsgemäß gerade durch Vernachlässigung scheinbar unwichtiger Einzelheiten sehr häufig unliebsame Zwischenfälle erlebt, soll im folgenden die Technik der Eckschen Fistel geschildert werden, wie sie von uns unter Berücksichtigung derartiger Einzelheiten ausgeführt wird (siehe auch Gerez und Weiss[11]).

Wir gehen grundsätzlich von einem 2 cm unterhalb des rechten Rippenbogens, diesem parallel verlaufenden Schnitt an die Leberpforte heran. Dieser Schnitt gestattet gute Übersicht und Operationsfreiheit, verlangt aber sorgfältigste Blutstillung. Nach Verlagerung der Dünndarmschlingen in den linken Teil der Bauchhöhle durch feuchtwarme Tücher wird die nun gut sichtbare Vena portae von ihrer Adventitia durch stumpfe Präparation befreit. Wir benutzen dazu zwei sehr lange anatomische Pinzetten, mit denen wir in großer Tiefe arbeiten können, ohne daß die eigene Hand die Sicht nimmt. Die sehr vorsichtig ausgeführte Abtrennung der Adventitia an der ventralen und rechten Fläche der Vena portae in einer Länge von 3—5 cm zwischen Abgang der Vena lienalis und Aufteilung der Pfortader in die

---

[9] Lamson, P. D., A. F. Abt, C. A. Oosthuisen u. S. M. Rosenthal: J. Pharmacol. (Am.) **21**, 401 (1923). — [10] Fischler, F., u. R. Schröder: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **61**, 428 (1909). — [11] Gerez, L., u. A. Weiss: Z. exper. Med. **100**, 281 (1937).

Darmvenen geschieht zu dem Zweck, die später vom Seidenfaden zu durchtrennende Wand möglichst dünn zu machen. Die Vena cava hat keine abtrennbare Adventitia, sondern eine Serosa-Bedeckung, die nicht entfernt werden darf. Oberhalb der Abgangsstelle der Vena lienalis wird die Pfortader rundherum von ihrer Adventitia befreit, was ohne Schwierigkeiten zu gelingen pflegt. Wird die Adventita an dieser Stelle nicht vollkommen entfernt, so läuft man Gefahr, bei der Abbindung der Pfortader an der Leberpforte andere wichtige Gefäße mitzuunterbinden.

Für die Gefäßnähte benutzen wir den Nadelhalter nach Lichtenberg (Firma Windler, Berlin), der sehr schlank gearbeitet und besonders geeignet ist, die feinen Darmnadeln (Krümmungsdurchmesser 1 cm) sicher festzuhalten. Bei der Auswahl der Nadeln ist darauf zu achten, daß ihre Stärke nicht wesentlich größer ist als die der Fäden, da sonst der Stichkanal in der Venenwand nur ungenügend verschlossen wird. Die meisten Blutungen stehen jedoch nach 1—2 Minuten.

Fortlaufende Nähte lassen sich zwar schnell und bequem ausführen, bilden aber einen erheblichen Unsicherheitsfaktor, da häufig genug der Faden einmal reißt. Wir setzen daher grundsätzlich am Anfang und Ende der geplanten Naht eine Knopfnaht und nähen dann das dazwischenliegende Stück fortlaufend. So verfahren wir sowohl bei der Grundnaht wie auch bei der Decknaht. Die Endfäden dieser beiden Nähte werden vor dem Schneiden der Fistel am cranialen Ende miteinander verknotet und nach dem Schneiden der Fistel auch am caudalen Ende. Als Schneidefaden benutzen wir nach früheren trüben Erfahrungen stets einen doppelten Seidenfaden, da nicht allzu selten der Faden reißt und dann alle Mühe umsonst ist. Zum Schneiden wird jeweils nur ein Faden verwandt, so daß man beim Reißen des Fadens stets noch einen Reservefaden zur Verfügung hat.

Nach Anlegung der Fistel erfolgt schließlich die Abbindung der Pfortader leberwärts. Hierbei treten niemals Schwierigkeiten auf, sofern die Unterbindung in der oben angegebenen Weise bereits vorbereitet ist und nur noch geknüpft zu werden braucht.

Zum Verschluß der Haut empfiehlt sich die intrakutane fortlaufende Naht, die von den Hunden nicht aufgebissen werden kann.

Ergebnisse.

Von insgesamt 13 Hunden, die zur Voroperation kamen, starben 3 Tiere schon während des Eingriffs oder wenige Stunden danach, 1 Tier ging 2 Tage später an schwerer Pneumonie zugrunde, die übrigen 9 erholten sich rasch und blieben bei fleischloser Diät in ausgezeichnetem Zustande. Erst 10—12 Tage nach Anlegung der Eckschen Fistel fand der eigentliche Versuch statt.

Sämtliche Hunde wurden mit Morphin-Chloralose narkotisiert und künstlich beatmet. Nach Einbindung der Kanülen für die Registrierung des Venen- und Arteriendrucks zwecks optischer Kontrolle der Kreislauflage erhielten einige Tiere zur Verhütung der Blutgerinnung Heparin (Promonta) in der von uns seit Jahren angewandten Dosierung. Hierbei machten wir die Beobachtung, daß dieses Mittel eine stark kreislaufschädigende Wirkung entfaltet, sobald das Pfortaderblut nicht mehr die Leberkapillaren passiert, sondern unter Umgehung der Leber direkt in die untere Hohlvene fließt. Während man an Normaltieren bei Verwendung von Heparindosen, die das Blut für 2—3 Stunden in vivo ungerinnbar machen, einen Ausgangsblutdruck von 120—140 mm Hg vorzufinden pflegt, sank der Arteriendruck bei allen Fistelhunden unmittelbar nach der Heparinzufuhr ausnahmslos auf unter 80 mm Hg.

Es kamen insgesamt 9 Versuche an Hunden mit Eckscher Fistel zur Durchführung. In den ersten 4 Versuchen wurde Histamin („Imido-Roche") in kleinen und mittleren Dosen als Schockgift verwandt, für die zweite Versuchsreihe stand uns sogenanntes histaminfreies Pepton-Witte zur Verfügung.

Histaminschock.

Entgegen der Feststellung Manwarings[12], daß die Entfernung der Leber für die Erholung des Kreislaufs im Histaminschock bedeutungslos ist, mußten wir die Beobachtung machen, daß bereits eine Histamindosis von 0,007 mg/kg bei Hunden mit Eckscher Fistel zum schweren Kreislaufschock führt, dem das Tier nach einiger Zeit regelmäßig erliegt. Es konnte daher an einem Fistelhund nur je ein Histaminversuch durchgeführt werden.

Tabelle 1.

Versuch	Eckesche Fistel: Zeiten	Eckesche Fistel: O_2-Maximal Vol.%	Versuch	Normaltier: Zeiten	Normaltier: O_2-Maximal Vol.%
Ia	ante inj.	20,3	Ib	ante inj.	20,5
	0,007 mg Histamin/kg i. v.			0,009 mg Histamin/kg i. v.	
	40″ post inj.	24,7		40″ post inj.	22,7
	15′ „ „	23,4		15′ „ „	21,8
IIa	ante inj.	15,1	IIb	ante inj.	15,8
	0,01 mg Histamin/kg i. v.			0,012 mg Histamin/kg i. v.	
	30″ post inj.	17,1		40″ post inj.	16,2
	2′ „ „	21,1		8′ „ „	20,3
	6′ „ „	20,6		12′ „ „	20,5

Das typische Verhalten der Sauerstoffkapazität des Blutes* unter der Wirkung von Histamin zeigt Tabelle 1. In der linken Spalte sind 2 charakteristische Versuche an Hunden mit Eckscher Fistel zusammengestellt, in der rechten Spalte zum Vergleich 2 Versuche am Normaltier**. Zunächst fällt auf, daß die Anfangswerte der Sauerstoffkapazität in Versuch IIa und b ungewöhnlich niedrig liegen. Wir hatten hier den Tieren noch vor der Histamininjektion je 300 ccm Ringer infundiert, um an Hand der Versuche von Lamson und Mitarbeitern (s. S. 676) unsere eigenen Beob-

[12] Manwaring, W. H., R. E. Monaco u. H. D. Marino: J. Immunol. (Am.) **8**, 217 (1923).

* Doppelbestimmung nach van Slyke.

** Die Auswahl der Kontrollversuche am Normaltier richtete sich in erster Linie nach den Anfangswerten der Sauerstoffkapazität beim entsprechenden Hauptversuch.

achtungen unter ähnlichen Voraussetzungen überprüfen zu können. Aus den Zahlenwerten in Versuch II geht klar hervor, daß unsere Ergebnisse mit denen Lamsons vollkommen übereinstimmen: Die Sauerstoffkapazität des durch die Ringer-Infusion stark verdünnten Blutes nimmt unter der Wirkung von Histamin nicht nur bei Hunden mit normal durchbluteter Leber, sondern auch bei solchen, deren Leber funktionell (bei Lamson anatomisch) ausgeschaltet worden war, rapid zu, um sogar unter Umständen innerhalb weniger Minuten Werte zu erreichen, wie sie vor der Ringer-Infusion bestanden haben mochten. In keinem Fall zeigen sich irgendwelche charakteristischen Unterschiede im Verhalten der Sauerstoffkapazität bei Hunden mit und ohne Eck-Fistel. Hieraus ergibt sich, daß die für das Ansteigen der Sauerstoffkapazität verantwortliche Plasmaverschiebung ins Gewebe keineswegs an die Existenz der Leber bzw. an ihre Blutversorgung seitens der Pfortader gebunden ist, sondern daß vielmehr der Plasmaaustritt aus der Blutbahn überwiegend im Bereich von Kapillargebieten stattfindet, die außerhalb der Leber liegen. — Dieser Befund kann indessen eine allgemeine Gültigkeit nur dann beanspruchen, wenn nachgewiesen ist, daß auch die Sauerstoffkapazität des unverdünnten Blutes unter der Wirkung von Histamin in gleicher Weise bei Hunden mit und ohne Fistel ansteigt. — In Versuch I der Tabelle 1 liegen die Anfangswerte der Sauerstoffkapazität um 20,5 Vol.%. Die Abweichung vom Normalwert ist somit gering. Bereits 40 Sekunden nach intravenöser Injektion von nur 0,007 mg/kg Histamin beim Fistel-Hund und von 0,009 mg beim Normaltier hat die Sauerstoffkapazität um 4,4 und 2,2 Vol.% zugenommen. In beiden Fällen, sowohl bei normal durchbluteter wie bei funktionell ausgeschalteter Leber ist es also zu einer erheblichen Eindickung des Blutes gekommen. Unterschiede im Sinne einer deutlich geringeren Eindickung bei ausgeschalteter Leber sind nicht zu beobachten, die Eindickung kann sogar — wie in unserem Beispiel — beim Fistel-Hund wesentlich hochgradiger sein als beim Normaltier. — Aus diesem Ergebnis ziehen wir den allgemeinen Schluß, daß die Bedeutung der Leber für den Plasmaverlust des Blutes im experimentellen Histaminschock verhältnismäßig gering sein muß.

Peptonschock.

Auch im Peptonschock findet eine Erholung des Kreislaufs bei Hunden mit Eckscher Fistel niemals statt. Dies entspricht ganz den Erfahrungen Manwarings[13] an entleberten Hunden mit vereinfachter Eckscher Fistel nach Dale und Laidlaw. Wir konnten deshalb auch hier an einem Fistel-Hund nur je einen Versuch durchführen, obwohl Peptondosen (0,1 g/kg) zur Verwendung kamen, die beim Normaltier noch keinen ausgesprochenen Schock hervorzurufen pflegen[14].

[13] Manwaring, W. H., W. S. Clark u. R. C. Chilcote: J. Immunol. (Am.) **8**, 191 (1923). — [14] Lerche, E.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **192**, 309 (1939).

Tabelle 2.

Versuch	Eck'sche Fistel: Zeiten	Eck'sche Fistel: O_2-Maximal Vol.%	Versuch	Normaltier: Zeiten	Normaltier: O_2-Maximal Vol.%
Ia	ante inj.	15,2	Ib	ante inj.	16,7
	0,1 g Pepton/kg i. v.			0,1 g Pepton/kg i. v.	
	1′ post inj.	16,9		30″ post inj.	16,8
	3′ „ „	17,6		90″ „ „	16,9
	5′ „ „	19,5		13′ „ „	17,3
	10′ „ „	20,5		17′ „ „	18,6
	22′ „ „	18,6		24′ „ „	18,2
IIa	ante inj.	24,2	IIb	ante inj.	23,4
	0,1 g Pepton/kg i. v.			0,1 g Pepton/kg i. v.	
	50″ post inj.	24,0		2′ post inj.	24,1
	100″ „ „	24,4		7′ „ „	24,5
	10′ „ „	25,3		12′ „ „	24,3
	25′ „ „	25,1			

Die Veränderungen der Erythrocytenkonzentration unter der Wirkung von „histaminfreiem“ Pepton beim Fistel-Hund und vergleichsweise beim Normaltier kommen wiederum an zwei charakteristischen Beispielen zur Darstellung. Tabelle 2 gibt zunächst in Versuch Ia und b zwei Versuche wieder, in denen das Blut von vornherein durch 300 ccm Ringer verdünnt war. Wir sehen nach intravenöser Injektion von 0,1 g/kg Pepton (gelöst in 5 ccm Ringer) ähnlich wie im Histaminschock ein deutliches Ansteigen der Sauerstoffkapazität sowohl beim Normaltier wie beim Fistel-Hund. In beiden Fällen entwickelt sich jedoch die Eindickung des Blutes wesentlich langsamer als nach Histamin, was mit früheren Beobachtungen gut übereinstimmt (Lerche). Typische Unterschiede im Verhalten der Sauerstoffkapazität bei Hunden mit und ohne Fistel sind nicht festzustellen, man gewinnt vielfach sogar den Eindruck, als ob die Bluteindickung bei Hunden mit Eck'scher Fistel noch etwas stärker ausfällt als beim entsprechenden Normaltier. Sicher ist jedenfalls, daß der Plasmaaustritt ins Gewebe auch nach Pepton überwiegend im Bereich von Kapillargebieten stattfindet, die außerhalb der Leber gelegen sind. Für eine allgemeine Gültigkeit dieser Schlußfolgerung sprechen weitere Peptonversuche, in denen eine primäre Verdünnung des Blutes vermieden war. In Versuch IIa und b (Tabelle 2) liegen die Anfangswerte der Sauerstoffkapazität um 24 Vol.%, also verhältnismäßig hoch. 7 Minuten nach intravenöser Injektion von wiederum 0,1 g/kg Pepton ist beim Normaltier die Sauerstoffkapazität um 1,1 Vol.% angestiegen. Den gleichen Anstieg sehen wir beim Fistel-Hund 10 Minuten nach Injektion derselben Peptondosis. Es finden sich also auch hier keine wesentlichen Unterschiede im Verhalten der Sauerstoffkapazität bei Tieren mit normal durchbluteter und funktionell ausgeschalteter Leber. Wir

müssen aus diesem Ergebnis den Schluß ziehen, daß das im Peptonschock auftretende Leberödem für den Plasmaverlust des Gesamtblutes von verschwindend geringer Bedeutung ist.

Zusammenfassung.

1. Ausführliche Beschreibung einer modifizierten Technik in der Anlegung Eckscher Fisteln für den Dauerversuch.

2. Im experimentellen Histamin- und Peptonschock kommt es zu einer erheblichen Eindickung des Blutes nicht nur bei normalen Hunden, sondern auch bei solchen, deren Leber durch eine sterile Voroperation aus dem Pfortaderkreislauf ausgeschaltet wurde. Das sowohl im Histaminwie auch besonders im Peptonschock auftretende Leberödem kann daher von keiner ausschlaggebenden Bedeutung für den Plasmaverlust des Gesamtblutes sein.

3. Es wird auf die stark kreislaufschädigende Wirkung von Heparin bei Hunden mit Eckscher Fistel hingewiesen.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin.

Über eine diuretische und Kochsalz ausschwemmende Substanz in Hypophysenhinterlappen-Präparaten*.

Von

G. Kuschinsky und **H. E. Bundschuh.**

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 5. April 1939.)

Seit von den Velden[1] beim Menschen und Römer[2] beim Tier die harnhemmende Wirkung von Hypophysenhinterlappen (HHL)-Extrakten zeigen konnten, wurde die alte Ansicht, daß HHL diuretische Wirkungen hätte, aufgegeben. Es hatte sich gezeigt, daß die zuerst von Magnus und Schäfer[3] beschriebene Diurese nach HHL nur unter bestimmten Bedingungen auszulösen war. Diese Bedingungen waren Narkose durch verschiedene Mittel, hoher Kochsalzgehalt der Gewebe usw. Jedenfalls wurde die „normale" Wirkung des HHL als harnhemmend betrachtet. Es zeigte sich, daß dieser Effekt dem Vasopressinanteil zuzuschreiben war. Nach den Befunden von Bugbee und Simond[4] ist durch Narkose die harnhemmende Wirkung auch des Vasopressins in eine diuretische umzuwandeln, nach Roboz[5] nur unter bestimmten Bedingungen. Eine Wirkung auf den Wasserhaushalt, die nicht auf das Vasopressin zu beziehen wäre, wird heute im allgemeinen nicht angenommen. Nur wenige Befunde der Literatur sprechen dafür, daß auch diuretische Wirkungen von HHL-Präparaten vorkommen, die nicht als Vasopressineffekte erklärt werden können. Draper[6] beschreibt eine diuresefördernde Wirkung von HHL-Präparaten beim nichtnarkotisierten Hund und Fraser[7] nimmt auf Grund seiner Versuche an, daß Oxytocin eine dem Vasopressin antagonistische Wirkung habe. Er hat diesen Befund besonders deshalb betont, weil er die Methode der Vasopressinauswertung nach Burn für ungenau hält, wenn wechselnde Mengen Oxytocin in verschiedenen Präparaten enthalten sind. Frey[8] hat beim normalen Kanin-

*) Diese Arbeit wurde aus dem Roche-Fonds bei der deutschen Forschungsgemeinschaft unterstützt.

[1] Velden, R. von den: Berl. klin. Wschr. **1913**, S. 2083. — [2] Römer, C.: Dtsch. med. Wschr. **1914**, Nr. 108. — [3] Magnus, R., u. E. A. Schäfer: J. Physiol. (Brit.) **27**, Proc. IX, 1901. — [4] Bugbee, E. P., u. E. A. Simond, Amer. J. Physiol. **86**, 171, 1928. — [5] Roboz, P.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **163**, 534, 1932. — [6] Draper, W. B.: Amer. J. Physiol. **89**, 273 (1929). — [7] Fraser, A. M.: J. Pharmacol. (Amer.) **60**, 89 (1938). — [8] Frey, E.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **187**, 221 (1937).

chen nach der intravenösen Injektion einer sehr hohen Dosis Tonephin eine sehr schnell eintretende Diurese beobachtet. Diese Wirkung wird besonders zu betrachten sein.

Wir haben eine große Zahl von Diureseversuchen an Ratten durchgeführt, um zu prüfen, ob regelmäßig diuretische Wirkungen mit vasopressinarmen HHL-Präparaten zu erzielen seien und ob auch die Chloridausscheidung eine deutliche Änderung erkennen ließe.

Über die Ergebnisse einer ersten Versuchsreihe haben wir bereits kurz berichtet[8a].

Methodik.

Als Versuchstiere dienten männliche, nicht narkotisierte Ratten im Gewicht von 150 bis 250 g. Sie erhielten eine gleichmäßige Kost bestehend aus einer Mischung von Mais, Gerste und gemahlenen Krabben. Die Tiere waren bis zum Beginn des Versuchs mit Wasser versorgt. Bei den ersten Versuchen erhielten die Tiere auch während der Versuchszeit Wasser ad libitum, später wurde allen Tieren mit der Magensonde je 3 ccm Wasser bei Beginn des Versuchs gegeben, aber dann kein Wasser mehr im Käfig angeboten. Die Ratten wurden in Gruppen zu je vier gleichbehandelten Tieren in Diuresekäfige gesetzt. Die Harnausscheidung wurde in Abständen von $^1/_2$ bzw. 1 Stunde gemessen und insgesamt 4 bis 6 Stunden beobachtet. Wenn die Ablesung nicht genau zu den vollen Stunden erfolgt war, wurde der Stundenwert aus der Ausscheidungskurve bestimmt. Als Oxytocinpräparat wurde Orasthin, als Vasopressinpräparat wurde Tonephin und als Präparat mit beiden Anteilen des HHL wurde Hypophysin benutzt. Die Dosierung des HHL-Präparates wurde außer in den ersten Versuchen regelmäßig auf 100 g Tier berechnet. Diese Dosis für 100 g Tier war in 0,5 ccm physiologischer Kochsalzlösung enthalten. Im folgenden wird 0,001 Einheit (E.) als 1 Milli-Einheit (Milli-E.) bezeichnet.

Für einen Versuch wurden auf einmal 13—14 Gruppen zu je 4 Ratten verwendet, um unter Ausschaltung täglicher Schwankungen möglichst zahlreiche Einzelwerte in einem Versuch zu bekommen. Je 3—4 Gruppen erhielten 20, 50 oder 100 Milli-E. Hypophysin, Orasthin oder Tonephin. Bei den meisten Versuchen wurde auch eine Mischung von Orasthin und Tonephin (je 45 bzw. je 90 Milli-E.) gegeben, um festzustellen, ob die Mischung dieselbe Wirkung hat, wie die entsprechende Hypophysinmenge. Dabei war beim Orasthin eine Beimengung von 10% Tonephin angenommen worden und umgekehrt, so daß z. B. je 45 Milli-E. Orasthin und Tonephin einer Menge von 50 Milli-E. Hypophysin entsprechen.

Die Chloridbestimmungen im Harn wurden nach Volhard durchgeführt, die Werte dann auf Kochsalz umgerechnet. In manchen Fällen

[8a] Kuschinsky, G., u. H. E. Bundschuh: Klin. Wschr. **1939**, S. 207.

war es wegen der geringen Harnmenge nötig, die Harne mehrerer gleichbehandelter Gruppen zusammen zu analysieren.

Versuchsergebnisse.

Der Einfluß von Orasthin und Tonephin auf die Wasserausscheidung.

Zunächst wurde die Wirkung von je 10, 20, 50 und 100 Milli-E. der genannten Substanzen untersucht. Die Werte sind in Tabelle 1 aufgeführt. In diesen Fällen wurde noch nicht vor Versuchsbeginn Wasser mit der Magensonde gegeben. Wir sehen eine diuretische Wirkung des Orasthins, eine hemmende des Tonephins. Schon aus diesen Ergebnissen geht hervor, daß die diuretische Wirkung des Orasthins nicht auf der Verunreinigung mit kleinen Mengen Vasopressin beruhen kann. Sonst müßte bei einer hypothetischen Verunreinigung von etwa 10% der diuretische Effekt von 10 Milli-E. Tonephin und 100 Milli-E. Orasthin gleich sein. Zahlreiche weitere Versuche in dieser Richtung führten immer zu den gleichen Ergebnissen.

Noch besser läßt sich der Unterschied zwischen den verschiedenen Substanzen zeigen, wenn die Ratten vor Versuchsbeginn Wasser erhalten: 3 ccm pro Tier erwies sich als die geeignete Menge; denn größere Wassermengen lassen diuretische, kleinere dagegen antidiuretische Wirkungen von Substanzen nicht so gut erkennen. In dieser Anordnung wurden Versuche mit je 20 und 50 Milli-E. der genannten Substanzen gemacht, deren Ergebnisse aus Tabelle 2 und 3 hervorgehen. Die Versuchsdauer wurde teilweise auf 6 und 8 Stunden ausgedehnt. Die diuretische Wirkung des Orasthins und die hemmende des Tonephins sind schon bei 20 Milli-E. deutlich, aber bei 50 Milli-E. viel mehr ausgesprochen. Die Werte für Hypophysin liegen unter denen der Kontrollen, die nur Wasser und physiologische Kochsalzlösung erhalten haben; es ist also auch eine Hemmung zu beobachten. Sie ist aber nicht so groß wie nach Tonephin. Eine Mischung von Orasthin und Tonephin ergibt ungefähr denselben Effekt wie Hypophysin. Die diuretische Wirkung des Orasthins beginnt erst nach einer vorübergehenden, etwa einhalb- bis einstündigen Hemmung.

In einer weiteren Versuchsreihe wurden die Dosen erhöht, die Tiere erhielten je 100 Milli-E. der genannten Substanzen. Dabei zeigte sich, daß die Harnausscheidung nach Orasthin nicht stärker, sondern etwas geringer war als nach 50 Milli-E. Der Grund hierfür kann in einer schlechteren Reaktion der Versuchstiere zu suchen sein; denn auch der Leerwert zeigt eine schlechtere Wasserausscheidung. Eine etwas größere Wassergabe hätte die verschiedenen Wirkungen hier besser gezeigt.

Die Ergebnisse sind aus Tabelle 4 zu ersehen. Die Mischung von Orasthin und Tonephin ergab auch hier fast dieselben Werte wie Hypo-

physin in der entsprechenden Dosis. Der Verlauf der Diurese läßt sich am besten verfolgen, wenn man die Ergebnisse graphisch darstellt, Abb. 1a u. 1b.

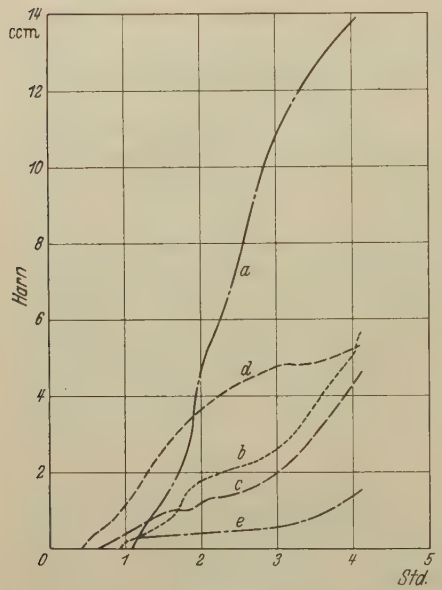


Abb. 1a.

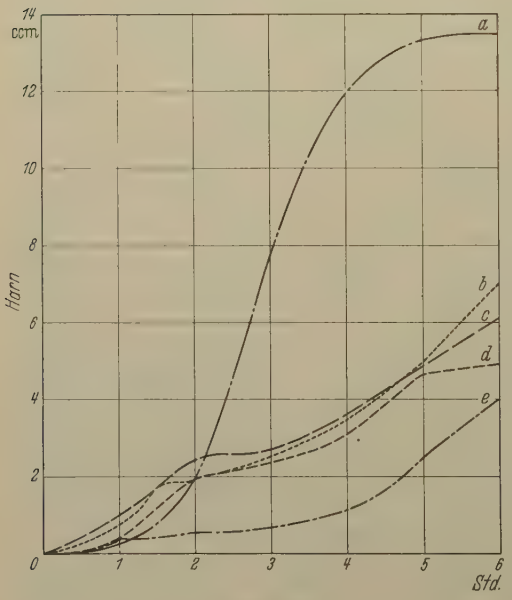


Abb. 1b.

Der Einfluß von Orasthin und Tonephin auf die Kochsalzausscheidung.

Zur Verfolgung der Salzausscheidung wurde zunächst nur der Gehalt des 4-Stunden-Harns an Chlorid bestimmt. Dann wurde in einigen Versuchen auch die Chloridausscheidung in 2-Stunden-Portionen geprüft. Die Ergebnisse sind in Tabelle 1, 2, 3 und 4 eingetragen. Dabei zeigt sich, daß nach 20 und 50 Milli-E. in allen Fällen die Kochsalzausscheidung pro ccm Harn für Orasthin sogar höher liegt als für Tonephin. Die absolute Kochsalzausscheidung ist nach Orasthin beträchtlich höher als nach Tonephin. Wir sehen auch, daß ein großer Teil der bekannten kochsalzausschwemmenden Wirkung des Hypophysins dem Orasthinanteil zukommt. Nach 100 Milli-E. als Einzeldosis sind die Kochsalzwerte pro ccm nach Tonephin höher als nach Orasthin, die absoluten allerdings wegen der stärkeren Harnhemmung noch geringer als nach 50 Milli-Einheiten Tonephin. Wenn die Kochsalzbestimmungen in 2-Stunden-Intervallen gemacht werden, so zeigt sich, daß nach Orasthin und Tonephin immer der Harn der ersten beiden Stunden die höchsten Konzentrationen aufweist. Die ausgeschwemmten

Tabelle 1. Einfluß von Hypophysenhinterlappen-Substanzen auf die Wasser- und Kochsalzausscheidung bei der Ratte.
Jede Gruppe besteht aus 4 Ratten.

Datum	10 Milli-E. Orasthin in 0,5 ccm Verdünnung pro 100 g s. c.					20 Milli-E. Orasthin in 0,5 ccm Verdünnung pro 100 g s. c.					50 Milli-E. Orasthin in 0,5 ccm Verdünnung pro 100 g s. c.					100 Milli-E. Orasthin in 0,5 ccm Verdünnung pro 100 g s. c.		
	Harnmenge nach 4 Std. in ccm			NaCl* in mg		Harnmenge nach 4 Std. in ccm			NaCl* in mg		Harnmenge nach 4 Std. in ccm			NaCl* in mg		Harnmenge nach 4 Std. in ccm	NaCl in mg	
1938	1. Gr.	2. Gr.	Durchschnitt	pro ccm	absolut	1. Gr.	2. Gr.	Durchschnitt	pro ccm	absolut	1. Gr.	2. Gr.	Durchschnitt	pro ccm	absolut	1. Gr.	pro ccm	absolut
25. X.	0,9	—	0,9	—	—	5,0	—	5,0	—	—	—	—	—	—	—	5,2	—	—
2. XI.	2,8	1,5	2,2	13,5	29,7	1,3	3,1	2,2	14,5	31,9	—	—	—	—	—	4,9	20,9	102,4
15. XI.	—	—	—	—		1,5	0,8	1,2	—		4,4	3,1	3,8	10,5	39,9	5,1	12,2	62,2

Datum	10 Milli-E. Tonephin in 0,5 ccm Verdünnung pro 100 g s. c.					20 Milli-E. Tonephin in 0,5 ccm Verdünnung pro 100 g s. c.					50 Milli-E. Tonephin in 0,5 ccm Verdünnung pro 100 g s. c.					100 Milli-E. Tonephin in 0,5 ccm Verdünnung pro 100 g s. c.		
	Harnmenge nach 4 Std. in ccm			NaCl* in mg		Harnmenge nach 4 Std. in ccm			NaCl* in mg		Harnmenge nach 4 Std. in ccm			NaCl* in mg		Harnmenge nach 4 Std. in ccm	NaCl in mg	
1938	1 Gr.	2. Gr.	Durchschnitt	pro ccm	absolut	1. Gr.	2. Gr.	Durchschnitt	pro ccm	absolut	1. Gr.	2. Gr.	Durchschnitt	pro ccm	absolut	1. Gr.	pro ccm	absolut
25. X.	0,6	—	0,6	—	—	0,3	-	0,3	—	—	—	—	—	—	—	1,7	—	—
2. XI.	0,4	0,4	0,4	7,9	3,2	0,5	—	0,5	10,9	5,5	—	—	—	—	—	1,6	—	—
15. XI.	—	—	—	—	—	0,3	0,3	0,3	—	—	0,6	1,0	0,8	6,1	4,9	2,2	7,1	15,6

Datum	0,5 ccm phys. Kochsalzlösung pro 100 g s. c.				
	Harnmenge nach 4 Std. in ccm			NaCl* in mg	
1938	1. Gr.	2. Gr.	Durchschnitt	pro ccm	absolut
25. X.	0,5	0,2	0,4	5,2	2,1
2. XI.	1,6	1,1	1,4	10,5	14,7
15. XI.	0,1	0,0	0,1	—	—

* Zu dieser Bestimmung wurde der Harn der gleich behandelten Gruppen vereinigt.

Tabelle 2. Einfluß von Hypophysenhinterlappen-Substanzen auf die Wasser- und Kochsalzausscheidung bei der Ratte. Jede Ratte erhielt bei Beginn des Versuches 3 ccm Wasser per os. (Jede Gruppe besteht aus 4 Ratten.)

Datum	Zeit nach der Injektion	20 Milli-E. Orasthin in 0,5 ccm Verdünnung pro 100 g s. c.											
		Harnmenge in ccm					NaCl pro ccm in mg				NaCl absolut in mg			
		1. Gr.	2. Gr.	3. Gr.	4. Gr.	Durchschnitt	1. Gr.	2. Gr.	3. Gr.	4. Gr.	1. Gr.	2. Gr.	3. Gr.	4. Gr.
7. II. 1939	Nach 1 Std.	0,0	1,9	0,4	0,5	0,7								
	„ 1½ „	2,8	3,3	1,4	0,8	2,1								
	„ 2 „	4,5	4,3	3,4	2,7	3,7								
	„ 3 „	6,0	4,3	5,1	3,4	4,7								
	„ 4 „	9,0	4,9	7,5	7,0	7,1	6,6	4,9	5,9	6,9	59,4	24,0	44,3	48,3
									6,1				44,0	
	„ 5 „	9,8	6,4	7,5	7,0	7,5								
	„ 6 „	9,8	6,4	7,5	7,6	7,5								
15. II. 1939	Nach 1 Std.	1,3	1,0	0,8	0,7	0,9								
	„ 1½ „	3,5	3,5	1,2	1,1	2,3								
	„ 2 „	6,7	5,9	2,5	2,2	4,3								
	„ 3 „	8,7	9,7	5,1	2,8	6,6								
	„ 4 „	10,0	9,7	6,5	3,8	7,5			7,2*				54,7	
	„ 5 „	11,0	9,7	7,0	3,8	7,9								
	„ 6 „	11,0	9,7	7,2	4,6	8,1								
	„ 7 „	11,7	10,1	7,2	4,6	8,4								
	„ 8 „	11,7	12,4	7,2	5,6	9,2								
	In der 1. u. 2. Std.	6,7	5,9	2,5	2,2	4,3			7,5*				32,3	
	„ „ 3. „ 4. „	3,3	3,8	4,0	1,6	3,2			7,0*				22,4	
	„ „ 5. „ 6. „	1,0	0,0	0,7	0,8	0,6			4,7*				2,8	
	„ „ 7. „ 8. „	0,7	2,7	0,0	1,0	1,1			3,9*				4,3	
2. III. 1939	Nach 1 Std.	1,4	0,0	1,1	0,4	0,7								
	„ 1½ „	2,1	0,0	1,6	1,8	1,4								
	„ 2 „	5,1	2,3	2,8	2,1	3,1								
	„ 3 „	8,9	5,9	4,8	4,5	6,0								
	„ 4 „	10,0	6,6	5,2	4,6	6,6			8,2*				54,2	
	„ 5 „	10,0	7,1	5,2	4,6	6,7								
	„ 6 „	10,4	7,1	5,3	5,4	7,1								
	„ 7 „	10,5	8,0	5,3	6,1	7,5								
	„ 8 „	10,5	8,0	5,3	6,1	7,5								
	In der 1. u. 2. Std.	5,1	2,3	2,8	2,1	3,1			9,0*				27,9	
	„ „ 3. „ 4. „	4,9	4,3	2,4	2,5	3,5			7,5*				26,3	
	„ „ 5. „ 6. „	0,4	0,5	0,1	0,8	0,5 } 0,9			8,4*				7,6	
	„ „ 7. „ 8. „	0,1	0,9	0,0	0,7	0,4 }								

* Zu dieser Bestimmung wurde der Harn der gleichbehandelten Gruppen vereinigt.

Tabelle 2 (Fortsetzung).

Datum	Zeit nach der Injektion	20 Milli-E. Tonephin in 0,5 ccm Verdünnung pro 100 g s. c.											
		Harnmenge in ccm					NaCl pro ccm in mg				NaCl absolut in mg			
		1. Gr.	2. Gr.	3. Gr.	4. Gr.	Durchschnitt	1. Gr.	2. Gr.	3. Gr.	4. Gr.	1. Gr.	2. Gr.	3. Gr.	4. Gr.
7. II. 1939	Nach 1 Std.	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0								
	„ 1½ „	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0								
	„ 2 „	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0								
	„ 3 „	0,2	0,0	0,0	0,0	0,1								
	„ 4 „	3,4	0,0	0,7	0,1	1,1	1,9	0,0	6,7*		6,5	0,0	2,7	
								3,8				3,0		
	„ 5 „	5,7	2,0	0,7	2,5	2,7								
	„ 6 „	5,9	2,0	2,0	2,5	3,1								
15. II. 1939	Nach 1 Std.	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0								
	„ 1½ „	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0								
	„ 2 „	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0								
	„ 3 „	0,0	0,2	0,0	0,0	0,1								
	„ 4 „	0,0	3,6	2,0	0,6	1,6			3,8**				6,1	
	„ 5 „	0,8	4,1	2,8	1,0	2,2								
	„ 6 „	1,8	4,1	3,8	1,0	2,7								
	„ 7 „	1,8	4,6	4,7	1,5	3,2								
	„ 8 „	3,0	6,2	4,8	1,5	3,9								
	In der 1. u. 2. Std.	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0			0,0**				0,0	
	„ „ 3. „ 4. „	0,0	3,6	2,0	0,6	1,6			3,8**				6,1	
	„ „ 5. „ 6. „	1,8	0,5	1,8	0,4	1,1			4,0**				4,4	
	„ „ 7. „ 8. „	1,2	2,1	1,0	0,5	1,2			4,8**				5,8	
2. III. 1939	Nach 1 Std.	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0								
	„ 1½ „	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0								
	„ 2 „	0,0	0,0	0,0	0,9	0,2								
	„ 3 „	0,0	0,2	0,0	3,4	0,9								
	„ 4 „	0,7	0,2	3,1	5,4	2,4			7,0**				16,8	
	„ 5 „	0,7	0,2	3,8	7,3	3,0								
	„ 6 „	1,6	1,5	5,2	9,5	4,5								
	„ 7 „	2,7	2,3	6,4	9,9	5,3								
	„ 8 „	2,7	3,2	6,8	9,9	5,6								
	In der 1. u. 2. Std.	0,0	0,0	0,0	0,9	0,2 | 2,3			7,0**				16,1	
	„ „ 3. „ 4. „	0,7	0,2	3,1	4,5	2,1								
	„ „ 5. „ 6. „	0,9	1,3	1,4	4,1	1,9			4,7**				8,9	
	„ „ 7. „ 8. „	1,1	1,7	1,6	0,4	1,2			6,1**				7,3	

* Zu dieser Bestimmung wurde der Harn der 3. und 4. Gruppe vereinigt. — ** Zu dieser Bestimmung wurde der Harn der gleichbehandelten Gruppen vereinigt.

Tabelle 2 (Fortsetzung).

Datum	Zeit nach der Injektion	20 Milli-E. Hypophysin in 0,5 ccm Verdünnung pro 100 g s. c.												0,5 ccm physiologische Kochsalzlösung pro 100 g s. c.						
		Harnmenge in ccm					NaCl pro ccm in mg				NaCl absolut in mg				Harnmenge in ccm			NaCl pro ccm in mg		NaCl absolut in mg	
		1. Gr.	2. Gr.	3. Gr.	4. Gr.	Durchschnitt	1. Gr.	2. Gr.	3. Gr.	4. Gr.	1. Gr.	2. Gr.	3. Gr.	4. Gr.	1. Gr.	2. Gr.	Durchschnitt	1. Gr.	2. Gr.	1. Gr.	2. Gr.
7. II. 1939	Nach 1 Std.	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0									0,8	0,0	0,4				
	„ 1½ „	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0									0,8	0,0	0,4				
	„ 2 „	0,1	0,1	0,0	0,9	0,3									1,3	1,2	1,3				
	„ 3 „	0,1	0,4	0,5	2,1	0,8									1,9	1,4	1,7				
	„ 4 „	2,7	0,9	4,2	—	2,6	—	21,5	7,9	—	—	19,4	33,2	—	1,9	1,4	1,7	3,4	2,9	6,5	4,1
								14,7				26,3						3,2		5,3	
	„ 5 „	3,4	0,9	4,9	—	3,1									2,5	2,5	2,5				
	„ 6 „	3,4	4,3	4,9	—	4,2									2,5	2,5	2,5				
15. II. 1939	Nach 1 Std.	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0									0,9	0,1	0,5				
	„ 1½ „	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0									0,9	0,1	0,5				
	„ 2 „	0,0	0,1	0,1	0,0	0,1									0,9	0,2	0,6				
	„ 3 „	0,5	0,2	0,1	0,4	0,3									2,3	1,0	1,7				
	„ 4 „	4,7	2,5	2,2	2,2	2,9	—				—				2,4	1,0	1,7	—		—	
	„ 5 „	6,6	5,0	3,8	3,0	4,6									2,4	1,1	1,8				
	„ 6 „	6,6	5,0	5,2	3,7	5,1									2,4	1,9	2,2				
	„ 7 „	6,6	5,4	5,2	5,0	5,6									2,9	2,8	2,9				
	„ 8 „	8,1	5,7	6,0	5,9	6,4									3,3	2,8	3,1				
	In der 1. u. 2. Std.	0,0	0,1	0,1	0,0	0,1	—				—				0,9	0,2	0,6	—		—	
	„ „ 3. „ 4. „	4,7	2,4	2,1	2,2	2,9	10,7*				31,0				1,5	0,8	1,2	2,8*		3,4	
	„ „ 5. „ 6. „	1,9	2,5	3,0	1,5	2,2	6,2*				13,6				0,0	0,9	0,5	—		—	
	„ „ 7. „ 8. „	1,5	0,7	0,8	2,2	1,3	2,6*				3,4				0,9	0,9	0,9	2,4*		2,2	
2. III. 1939	Nach 1 Std.	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0									0,2	0,0	0,1				
	„ 1½ „	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0									2,3	1,7	2,0				
	„ 2 „	0,0	0,0	0,4	0,0	0,1									2,3	2,5	2,4				
	„ 3 „	1,6	2,0	1,9	3,3	2,2									2,6	2,9	2,8				
	„ 4 „	2,7	4,6	3,3	3,3	3,5	10,6*				37,1				2,6	2,9	2,8	2,5*		7,0	
	„ 5 „	2,7	6,6	5,8	4,8	5,0									2,9	4,2	3,6				
	„ 6 „	3,4	7,2	6,8	5,5	5,8									3,3	5,4	4,4				
	„ 7 „	3,4	7,6	7,4	5,7	6,0									3,3	5,4	4,4				
	„ 8 „	3,4	7,6	7,5	5,7	6,1									4,4	5,4	3,9				
	In der 1. u. 2. Std.	0,0	0,0	0,4	0,0	0,1	3,5								2,3	2,5	2,4	1,9*		4,6	
	„ „ 3. „ 4. „	2,7	4,6	2,9	3,3	3,4		10,6*				37,1			0,3	0,4	0,4	6,1*		2,4	
	„ „ 5. „ 6. „	0,7	2,6	3,5	2,2	2,2	2,5								0,7	2,5	1,6	7,1*		11,4	
	„ „ 7. „ 8. „	0,0	0,4	0,7	0,2	0,3		5,1*				12,8			1,1	0,0	0,6	3,6*		2,2	

Tabelle 3. Einfluß von Hypophysenhinterlappen-Substanzen auf die Wasser- und Kochsalzausscheidung bei der Ratte.

Jede Ratte erhielt bei Beginn des Versuches 3 ccm Wasser per os. (Jede Gruppe besteht aus 4 Ratten.)

Datum 1938	Zeit nach der Injektion	50 Milli-E. Orasthin in 0,5 ccm Verdünnung pro 100 g s. c.											
		Harnmenge in ccm				Na Cl pro ccm in mg				Na Cl absolut in mg			
		1. Gr.	2. Gr.	3. Gr.	Durchschnitt	1. Gr.	2. Gr.	3. Gr.		1. Gr.	2. Gr.	3. Gr.	
22. XI.	nach 1 Std.	0,1	0,0	0,0	0,0								
	„ 1½ „	2,1	0,6	1,3	1,3								
	„ 2 „	6,6	3,6	8,6	6,3								
	„ 3 „	12,8	8,2	14,8	11,9								
	„ 4 „	14,4	9,7	16,9	13,7	4,6	4,8	5,3		66,2	46,6	89,6	
							4,9				67,5		
29. XI.	nach 1 Std.	0,0	0,0	0,0	0,0								
	„ 1½ „	0,4	1,7	1,9	1,3								
	„ 2 „	0,4	5,7	5,2	3,8								
	„ 3 „	7,4	14,4	12,4	11,4								
	„ 4 „	10,4	16,9	14,6	14,0	5,6	4,7	5,8		58,2	79,4	84,7	
							5,4				74,0		

Datum 1938	Zeit nach der Injektion	50 Milli-E. Tonephin in 0,5 ccm Verdünnung pro 100 g s. c.											
		Harnmenge in ccm				Na Cl pro ccm in mg				Na Cl absolut in mg			
		1. Gr.	2. Gr.	3. Gr.	Durchschnitt	1. Gr.	2. Gr.	3. Gr.		1. Gr.	2. Gr.	3. Gr.	
22. XI.	nach 1 Std.	0,5	0,0	0,0	0,2								
	„ 1½ „	0,7	0,0	0,0	0,2								
	„ 2 „	0,7	0,0	0,0	0,2								
	„ 3 „	0,8	0,0	0,8	0,5								
	„ 4 „	2,2	0,0	3,4	1,9	5,9	4,8	0,0		13,0	16,3	0,0	
							3,6				9,8		
29. XI.	nach 1 Std.	0,0	0,0	1,6	0,5								
	„ 1½ „	0,0	0,0	1,6	0,5								
	„ 2 „	0,0	0,0	2,1	0,7								
	„ 3 „	0,0	0,0	2,3	0,8								
	„ 4 „	0,6	0,0	2,3	1,0	—	0,0	4,4		—	0,0	10,1	
							2,2				5,1		

Datum 1938	Zeit nach der Injektion	45 Milli-E. Orasthin + 45 Milli-E. Tonephin in 0,5 ccm Verdünnung pro 100 g s. c.											
		Harnmenge in ccm				Na Cl pro ccm in mg				Na Cl absolut in mg			
		1. Gr.	2. Gr.	3. Gr.	Durchschnitt	1. Gr.	2. Gr.	3. Gr.		1. Gr.	2. Gr.	3. Gr.	
22. XI.	nach 1 Std.	0,0	0,8	1,2	0,7								
	„ 1½ „	0,0	1,5	2,3	1,3								
	„ 2 „	2,1	1,6	2,8	2,2								
	„ 3 „	2,5	2,0	5,4	3,3								
	„ 4 „	4,8	5,0	11,2	7,0	15,8	12,3	8,1		75,8	61,5	90,7	
							12,1				76,0		
29. XI.	nach 1 Std.	0,0	0,0	0,0	0,0								
	„ 1½ „	0,0	0,0	0,0	0,0								
	„ 2 „	2,1	0,7	1,4	1,4								
	„ 3 „	2,1	1,5	1,4	1,7								
	„ 4 „	5,0	3,6	3,4	4,0	8,1	12,5	26,6		40,5	45,0	90,4	
							15,7				58,6		

Tabelle 3 (Fortsetzung).

Datum 1938	Zeit nach der Injektion	50 Milli-E. Hypophysin in 0,5 ccm Verdünnung pro 100 g s. c.									
		Harnmenge in ccm				NaCl pro ccm in mg			NaCl absolut in mg		
		1. Gr.	2. Gr.	3. Gr.	Durchschnitt	1. Gr.	2. Gr.	3. Gr.	1. Gr.	2. Gr.	3. Gr.
22. XI.	nach 1 Std.	0,0	0,0	0,5	0,2						
	„ 1½ „	0,4	0,8	1,2	0,8						
	„ 2 „	0,6	0,8	1,4	0,9						
	„ 3 „	3,6	2,4	1,6	2,5						
	„ 4 „	5,7	6,1	5,1	5,6	7,0	7,5	15,3	39,9	45,8	78,0
							9,9			54,6	
29. XI.	nach 1 Std.	2,0	0,0	0,0	0,7						
	„ 1½ „	2,5	0,0	1,5	1,3						
	„ 2 „	3,0	1,2	1,6	1,9						
	„ 3 „	3,9	1,3	1,7	2,3						
	„ 4 „	7,1	2,1	2,2	3,8	15,6	26,5	21,7	110,8	55,7	47,7
							21,3			71,4	

Datum 1938	Zeit nach der Injektion	0,5 ccm physiol. Kochsalzlösung pro 100 g s. c.							
		Harnmenge in ccm			NaCl pro ccm in mg		NaCl absolut in mg		
		1. Gr.	2. Gr.	Durchschnitt	1. Gr.	2. Gr.	1. Gr.	2. Gr.	
22. XI.	nach 1 Std.	2,2	1,7	2,0					
	„ 1½ „	5,2	1,9	3,6					
	„ 2 „	6,1	2,1	4,1					
	„ 3 „	6,1	3,3	4,7					
	„ 4 „	7,0	4,1	5,6	1,2	1,95	8,4	8,0	
						1,6		8,2	
29. XI.	nach 1 Std.	1,6	0,6	1,1					
	„ 1½ „	3,7	0,8	2,3					
	„ 2 „	4,5	2,1	3,3					
	„ 3 „	5,3	4,7	5,0					
	„ 4 „	5,3	5,2	5,3	3,1	3,1	16,4	16,1	
						3,1		16,3	

absoluten Kochsalzmengen sind nach 20 Milli-Einheiten in der ersten und zweiten Stunde etwa gleich hoch wie in der dritten und vierten Stunde, nach 100 Milli-Einheiten sind sie in der dritten und vierten Stunde sogar höher. Nach Orasthin und Tonephin verhalten sich die Werte der späteren Stunden ähnlich wie die Werte der Kontrolltiere. Dagegen ist während der „sekundären" Diurese nach Hypophysin bzw. der Mischung aus Tonephin und Orasthin in der fünften und sechsten Stunde zwar die Kochsalzkonzentration auch erniedrigt, zeigt aber eher ein ähnliches Ver-

Tabelle 4. Einfluß von Hypophysenhinterlappen-Substanzen auf die Wasser- und Kochsalzausscheidung bei der Ratte. — Jede Ratte erhielt bei Beginn des Versuches 3 ccm Wasser per os. (Jede Gruppe besteht aus 4 Ratten.)

Datum	Zeit nach der Injektion	100 Milli-E. Orasthin in 0,5 ccm Verdünnung pro 100 g s. c.											
		Harnmenge					NaCl pro ccm in mg				NaCl absolut in mg			
		1. Gr.	2. Gr.	3. Gr.	4. Gr.	Durchschnitt	1. Gr.	2. Gr.	3. Gr.	4. Gr.	1. Gr.	2. Gr.	3. Gr.	4. Gr.
7. XII. 1938	Nach 1 Std.	0,0	0,4	0,9	0,0	0,3								
	„ 1½ „	0,5	0,5	1,5	0,7	0,8								
	„ 2 „	1,2	1,7	3,8	1,3	2,0								
	„ 3 „	8,0	7,8	9,6	6,2	7,9								
	„ 4 „	13,4	13,4	15,0	7,4	12,3	8,3	9,1	8,8	10,3	111,2	121,9	132,0	76,2
								9,1				110,3		
	„ 5 „	14,7	14,8	15,9	—	15,1								
	„ 6 „	—	15,2	—	—	15,2								
14. XII. 1938	Nach 1 Std.	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0								
	„ 1½ „	0,9	0,0	2,2	0,0	0,8								
	„ 2 „	1,4	2,4	2,5	2,0	2,1								
	„ 3 „	6,1	8,5	13,2	7,9	8,9								
	„ 4 „	9,1	13,5	15,1	13,2	12,7	7,5	6,3	7,4	7,2	68,3	85,1	111,7	95,0
								7,1				90,0		
	„ 5 „	10,9	13,5	15,6	14,3	13,6								
	„ 6 „	11,3	—	15,6	—	13,5								
18. I. 1939	Nach 1 Std.	0,3	0,8	0,0		0,5								
	„ 1½ „	1,6	0,8	0,6		1,0								
	„ 2 „	3,3	0,8	0,7		1,6								
	„ 3 „	8,8	8,3	3,4		6,8								
	„ 4 „	15,7	12,0	8,7		12,1			7,9*				96,0	
	„ 5 „	17,1	14,8	8,7		13,5								
	„ 6 „	17,1	15,7	8,9		13,9								
	In der 1. u. 2. Std.	3,3	0,8	0,7		1,6			17,3*				27,7	
	„ „ 3. „ 4. „	12,4	11,2	8,0		10,5			6,5*				68,3	
	„ „ 5. „ 6. „	1,4	3,7	0,2		1,8			3,4*				6,1	
25. I. 1939	Nach 1 Std.	0,6	0,0	0,0		0,2								
	„ 1½ „	1,3	0,7	0,4		0,8								
	„ 2 „	3,8	1,8	0,7		2,1								
	„ 3 „	7,9	9,3	5,4		7,5								
	„ 4 „	9,9	12,8	9,3		10,7			8,8*				94,0	
	„ 5 „	10,4	13,4	9,4		11,1								
	„ 6 „	10,6	13,4	10,3		11,5								
	In der 1. u. 2. Std.	3,8	1,8	0,7		2,1			16,9*				35,5	
	„ „ 3. „ 4. „	6,1	11,0	8,6		8,6			6,8*				58,5	
	„ „ 5. „ 6. „	0,7	0,6	1,0		0,8			4,7*				3,8	

* Für diese Bestimmung wurde der Harn der gleich behandelten Gruppen vereinigt.

Tabelle 4 (Fortsetzung).

Datum	Zeit nach der Injektion	100 Milli-E. Tonephin in 0,5 ccm Verdünnung pro 100 g s. c.											
		Harnmenge					NaCl pro ccm in mg				NaCl absolut in mg			
		1. Gr.	2. Gr.	3. Gr.	4. Gr.	Durchschnitt	1. Gr.	2. Gr.	3. Gr.	4. Gr.	1. Gr.	2. Gr.	3. Gr.	4. Gr.
7. XII. 1938	Nach 1 Std.	4,2	0,5	0,0	—	1,6								
	„ 1½ „	4,2	0,5	0,0	—	1,6								
	„ 2 „	4,2	0,5	0,2	—	1,6								
	„ 3 „	5,1	1,0	0,4	—	2,2								
	„ 4 „	5,2	1,0	0,8	—	2,3	16,6	—	—	—	86,3	—	—	—
	„ 5 „	9,0	1,8	2,4	—	4,4								
	„ 6 „	13,4	3,9	—	—	8,7								
14. XII. 1938	Nach 1 Std.	0,0	0,0	0,0	0,4	0,1								
	„ 1½ „	0,0	0,0	0,0	0,4	0,1								
	„ 2 „	1,2	0,0	0,0	0,4	0,4								
	„ 3 „	1,2	0,0	0,0	0,7	0,5								
	„ 4 „	1,3	0,4	0,8	2,3	1,2	17,6	8,8*		13,4	23,9	5,3*		30,8
								12,2				16,3		
	„ 5 „	2,1	1,2	1,3	6,0	2,7								
	„ 6 „	3,2	1,2	—	—	2,2								
18. I. 1939	Nach 1 Std.	0,0	0,0	0,0		0,0								
	„ 1½ „	0,0	0,0	0,0		0,0								
	„ 2 „	0,0	0,5	0,0		0,2								
	„ 3 „	0,0	0,7	0,0		0,2								
	„ 4 „	1,2	1,0	0,8		1,0		16,2 **				16,2		
	„ 5 „	2,2	3,9	3,0		3,0								
	„ 6 „	4,4	8,1	4,1		5,5								
	In der 1. u. 2. Std.	0,0	0,5	0,0		0,2		27,7 **				5,5		
	„ „ 3. „ 4. „	1,2	0,5	0,8		0,8		13,4 **				10,7		
	„ „ 5. „ 6. „	3,2	7,1	3,3		4,5		4,4 **				19,8		
25. I. 1939	Nach 1 Std.	0,7	0,0	0,0		0,2								
	„ 1½ „	0,7	0,0	0,0		0,2								
	„ 2 „	0,7	0,3	0,0		0,3								
	„ 3 „	0,7	0,3	0,0		0,3								
	„ 4 „	0,8	0,3	0,2		0,4		—				—		
	„ 5 „	0,8	0,9	0,9		0,9								
	„ 6 „	0,9	2,1	2,0		1,7								
	In der 1. u. 2. Std.	0,7	0,3	0,0		0,3		—						
	„ „ 3. „ 4. „	0,1	0,0	0,2		0,1		—				—		
	„ „ 5. „ 6. „	0,1	1,8	1,8		1,2		8,3 **				10,0		

* Für diese Bestimmung wurde der Harn der 2. und 3. Gruppe vereinigt. — ** Für diese Bestimmung wurde der Harn der gleich behandelten Gruppen

Tabelle 4 (Fortsetzung).

Datum	Zeit nach der Injektion	90 Milli-E. Orasthin + 90 Milli-E. Tonephin in 0,5 ccm Verdünnung pro 100 g											
		Harnmenge					NaCl pro ccm in mg				NaCl absolut in mg			
		1. Gr.	2. Gr.	3. Gr.	4. Gr.	Durchschnitt	1. Gr.	2. Gr.	3. Gr.	4. Gr.	1. Gr.	2. Gr.	3. Gr.	4. Gr.
7. XII. 1938	Nach 1 Std.													
	„ 1½ „													
	„ 2 „													
	„ 3 „													
	„ 4 „													
	„ 5 „													
	„ 6 „													
14. XII. 1938	Nach 1 Std.													
	„ 1½ „													
	„ 2 „													
	„ 3 „													
	„ 4 „													
	„ 5 „													
	„ 6 „													
18. I. 1939	Nach 1 Std.	0,0	2,2	1,6		1,3								
	„ 1½ „	3,1	2,6	3,7		3,1								
	„ 2 „	3,1	2,7	4,1		3,3								
	„ 3 „	3,2	3,6	5,0		3,9								
	„ 4 „	4,4	4,3	6,3		5,0		20,4 *				101,9		
	„ 5 „	6,3	5,7	9,2		7,1								
	„ 6 „	—	7,4	11,5		9,4								
	In der 1. u. 2. Std.	3,1	2,7	4,1		3,3		20,8 *				68,6		
	„ „ 3. „ 4. „	1,3	1,6	2,2		1,7		19,6 *				33,3		
	„ „ 5. „ 6. „	—	3,1	5,2		4,2		9,4 *				39,5		
25. I. 1939	Nach 1 Std.	0,0	0,5	0,2		0,2								
	„ 1½ „	0,5	0,7	0,4		0,5								
	„ 2 „	0,5	1,0	0,4		0,6								
	„ 3 „	0,7	1,5	1,2		1,1								
	„ 4 „	1,2	3,4	1,2		1,9		23,5 *				44,7		
	„ 5 „	4,1	5,6	1,6		3,8								
	„ 6 „	5,0	6,3	2,6		4,6								
	In der 1. u. 2. Std.	0,5	1,0	0,4		0,6		27,5 *				16,5		
	„ „ 3. „ 4. „	0,7	2,4	0,8		1,3		21,7 *				28,2		
	„ „ 5. „ 6. „	3,8	2,9	1,4		2,7		8,6 *				23,2		

* Für diese Bestimmung wurde der Harn der gleich behandelten Gruppen vereinigt.

Tabelle 4 (Fortsetzung).

Datum	Zeit nach der Injektion	100 Milli-E. Hypophysin in 0,5 ccm Verdünnung pro 100 g s. c.												0,5 ccm physiologische Kochsalzlösung pro 100 g s. c.						
		Harnmenge					NaCl pro ccm in mg				NaCl absolut in mg				Harnmenge			NaCl pro ccm in mg		NaCl absolut in mg	
		1. Gr.	2. Gr.	3. Gr.	4. Gr.	Durchschnitt	1. Gr.	2. Gr.	3. Gr.	4. Gr.	1. Gr.	2. Gr.	3. Gr.	4. Gr.	1. Gr.	2. Gr.	Durchschnitt	1. Gr.	2. Gr.	1. Gr.	2. Gr.
7. XII. 1938	Nach 1 Std.	1,2	2,6	0,8	2,5	1,8									0,0	0,0	0,0				
	„ 1½ „	2,9	3,6	0,9	2,6	2,5									0,0	0,0	0,0				
	„ 2 „	4,1	4,9	0,9	3,6	3,4									0,0	0,0	0,0				
	„ 3 „	4,2	4,9	1,4	3,6	3,5									0,0	0,0	0,0				
	„ 4 „	5,5	5,5	2,6	4,6	4,6	18,5	20,8	25,1	19,8	101,8	114,4	65,3	91,1	0,5	0,1	0,3	—	—	—	—
									21,1				93,2								
	„ 5 „	5,5	6,8	5,0	6,9	6,1									—	—	—				
	„ 6 „	—	9,3	7,6	8,4	8,4									—	—	—				
14. XII. 1938	Nach 1 Std.	0,9	1,5	0,0	2,3	1,2									0,6	1,5	1,1				
	„ 1½ „	1,7	2,3	0,5	2,7	1,8									1,1	2,4	1,8				
	„ 2 „	2,1	2,9	2,1	3,8	2,7									1,1	3,5	2,3				
	„ 3 „	2,5	2,9	2,1	4,1	2,9									2,7	3,9	3,3				
	„ 4 „	3,5	4,0	3,2	5,0	3,9	25,6	25,3	22,8	25,1	89,6	101,2	73,0	125,5	3,2	4,1	3,7	4,8	1,4	15,4	5,7
									24,7				97,3						3,1		10,6
	„ 5 „	3,8	4,0	4,5	7,2	5,0									4,0	5,0	4,5				
	„ 6 „	4,6	5,6	6,1	—	5,4									4,6	—	4,6				
18. I. 1939	Nach 1 Std.	0,0	0,0	2,0		0,7									1,3	0,0	0,7				
	„ 1½ „	1,5	1,1	2,4		1,7									2,6	2,4	2,5				
	„ 2 „	2,1	1,6	3,8		2,5									3,4	5,4	4,4				
	„ 3 „	2,4	2,0	3,8		2,7									3,5	6,7	5,1				
	„ 4 „	3,4	2,4	4,3		3,4			24,4 *				82,9		3,9	8,8	6,3		2,8 *		17,7
	„ 5 „	3,4	3,3	6,0		4,2									4,4	8,8	6,6				
	„ 6 „	5,1	4,0	7,9		5,7									4,9	8,9	6,9				
	In der 1. u. 2. Std.	2,1	1,6	3,8		2,5			21,9 *				54,8		3,4	5,4	4,4		2,5 *		11,0
	„ „ 3. „ 4. „	1,3	0,8	0,5		0,9			31,2 *				28,1		0,5	3,4	1,9		3,5 *		6,7
	„ „ 5. „ 6. „	1,7	1,6	3,6		2,3			15,2 *				35,0		1,0	0,1	0,6		5,9 *		3,5
25. I. 1939	Nach 1 Std.	0,1	0,0	0,0		0,0									0,0	0,0	0,0				
	„ 1½ „	0,4	1,5	0,0		0,6									0,0	1,2	0,6				
	„ 2 „	0,7	1,6	0,3		0,9									0,7	1,3	1,0				
	„ 3 „	1,6	1,6	0,6		1,3									0,8	1,4	1,1				
	„ 4 „	2,0	3,3	1,3		2,2			24,3 *				53,3		0,8	2,7	1,8		4,3 *		7,7
	„ 5 „	3,0	4,9	3,6		3,8									1,6	4,0	2,8				
	„ 6 „	3,5	6,2	3,6		4,4									2,1	4,0	3,1				
	In der 1. u. 2. Std.	0,7	1,6	0,3		0,9			23,7 *				21,3		0,7	1,3	1,0		3,9 *		3,9
	„ „ 3. „ 4. „	1,3	1,7	1,0		1,3			24,6 *				32,0		0,1	1,4	0,8		4,7 *		3,8
	„ „ 5. „ 6. „	1,5	2,9	2,3		2,2			10,6 *				23,3		1,3	1,3	1,3		5,7 *		7,4

halten wie in den ersten Stunden nach Orasthin. Die absolute und relative Kochsalzausscheidung ist in Abb. 2 und 3 graphisch dargestellt.

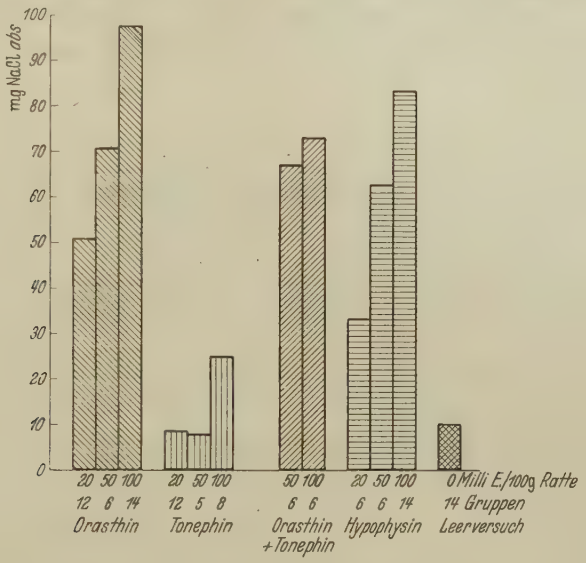


Abb. 2.

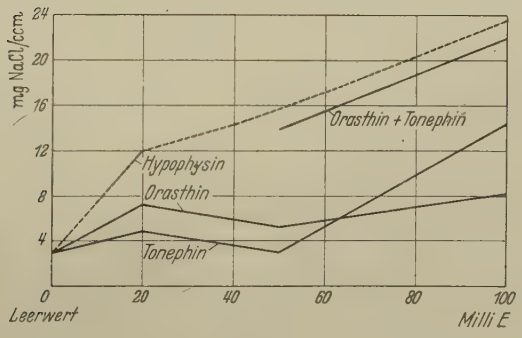


Abb. 3.

Tabelle 5. Prüfung der Wirkung des Chloretons auf die Wasser- und Kochsalzausscheidung bei der Ratte.

Jede Gruppe besteht aus 4 Ratten. Vgl. hierzu die Leerwerte der Tabelle 1.

Datum	Chloreton in 0,5 ccm pro 100 g subcutan					
	mg	Harnmenge nach $4^1/_2$ Std. in ccm			NaCl* in mg	
		1. Gr.	2. Gr.	Durchschnitt	pro ccm	absolut
25. X. 1938	0,1	0,4	1,6	1,0	6,9	6,9
	0,2	0,8	0,1	0,5	3,3	1,7
15. XI. 1938	0,75	2,1	2,5	2,3	5,7	13,1

* Zu dieser Bestimmung wurde der Harn der gleich behandelten Gruppen vereinigt.

Einfluß des Chloretons.

Die benutzten Präparate enthalten einen Zusatz von Chloreton. Diese Substanz hatte jedoch in dem in Frage kommenden Dosenbereich keinerlei Wirkungen auf den Wasserhaushalt und die Kochsalzausscheidung (siehe Tabelle 5).

Besprechung der Ergebnisse.

Wir haben gesehen, daß in HHL-Präparaten eine Substanz enthalten ist, die sowohl diuretische als auch kochsalzausschwemmende Wirkungen hat. Ferner wird die harnhemmende Wirkung des Vasopressins durch diese Substanz abgemildert. Zunächst entsteht die Frage, ob dieser Wirkstoff aus dem HHL stammt oder vielleicht aus dem Vorderlappen herrühren könnte.

Eine ganze Reihe von Befunden spricht dafür, daß dem HVL eine solche diuretische Wirkung zukommt[9–12], und zwar ist dabei zu unterscheiden zwischen der Diurese durch thyreotropes Hormon, die nach einiger Latenz auftritt, und durch eine zweite Substanz, die schon nach 1—2 Stunden wirkt. Daß es sich bei der schnellen Wirkung nicht um thyreotropes Hormon handeln kann, ließ sich an schilddrüsenlosen Tieren zeigen. Allerdings wird auch die schnell eintretende Diurese durch HVL nur bei Gegenwart von Schilddrüsenhormon ausgelöst[10–13]. Diese Befunde, die von White und Heinbecker[13] an Hunden erhoben wurden, ließen sich in demselben Laboratorium von White[14] bei Ratten nicht erzielen. Dieses Ergebnis spricht dafür, daß unsere in HHL-Präparaten enthaltene diuretische Substanz nicht mit der diuretischen des HVL identisch sein kann, weil sie ja bei der Ratte gut diuretisch wirkte.

Für die Herkunft aus dem HHL spricht ferner die Tatsache, daß wir bei den zu verschiedenen Zeiten hergestellten Präparaten immer wieder dieselbe Wirkung beobachteten, vor allem auch bei der Vereinigung von Orasthin und Tonephin. Gerade diese Konstanz des Verhältnisses der diuretischen zur antidiuretischen Substanz spricht dafür, daß nicht etwa in vivo oder post mortem eine Diffusion von wechselnden Mengen Vorderlappenhormon stattgefunden haben kann. Vielmehr lassen die Ergebnisse der Vermischung bestimmter Mengen von Orasthin und Tonephin sogar daran denken, daß die diuretische Substanz vielleicht mit dem Oxytocin identisch ist, da ja das auf oxytocische Substanz ausgewertete Orasthin eine nach dem Oxytocingehalt vorauszubestimmende diuretische Wirkung hat. Allerdings läßt sich nicht mit Sicherheit sagen, daß Oxytocin und die

[9] Teel, H. M.: J. amer. med. Assoc. **93**, 760 (1929). — [10] Barnes, B. O, J. F. Regan u. J. G. Bueno: Amer. J. Physiol. **105**, 559 (1933). — [11] Richter, C. P.: Ebenda **110**, 439 (1934.) — [12] Rothschild, F., H. Staub u. K. Mezey: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **179**, 61 (1935). — [13] White, H. L., u. P. Heinbecker: Amer. J. Physiol. **118**, 276 (1937). — [14] White, H. L.: Ebenda **119**, 5 (1937).

diuretische Substanz identisch sind. Ebensowenig läßt sich vorläufig entscheiden, wo der Angriffspunkt für die Diuresewirkung des HHL liegt. Die Latenzzeit von 1 Stunde und eine gewisse Ähnlichkeit mit der sekundären Diurese nach Vasopressin lassen daran denken, daß vielleicht durch die Zufuhr jedes einzelnen der beiden HHL-Präparate eine vorübergehende Hemmung ihrer Sekretion eintritt, wie es ja für Vorderlappenhormone bekannt ist. Diese Hemmung der Sekretion tritt beim Vasopressin wegen der starken Eigenwirkung dieser Substanz auf den Wasserhaushalt nicht zutage. Dagegen kann sie beim Oxytocin, selbst wenn es keine direkten Wirkungen auf die Diurese hat, auf dem Umweg über den HHL deutlich werden. Es würde sich also um eine Diurese handeln, die durch Hemmung der Hormonsekretion des HHL zustande käme. So ist vielleicht auch die sekundäre Diurese nach HHL aufzufassen, die Fromherz[15] als zweite Phase der HHL-Wirkung beschrieben hat. Beim Oxytocin wäre diese zweite Phase vorverlegt. Die von Frey[16] beobachtete starke diuretische Wirkung am nichtnarkotisierten Kaninchen nach intravenöser Injektion einer sehr hohen Dosis Tonephin tritt sehr schnell ein. Dabei spielen sicher die von Frey beschriebenen Veränderungen der Blutversorgung der verschiedenen Nierenabschnitte eine Rolle. Auch wir haben bei der Ratte nach sehr hohen Dosen eine Diurese ohne anfängliche Hemmung beobachtet. Da der Ausscheidungsverlauf ein ganz anderer ist als in den bisher berichteten Versuchen, möchten wir die Versuche und Betrachtungen über diese Frage gesondert mitteilen.

Die starke kochsalzausschwemmende Wirkung des Orasthins ist bemerkenswert. Dabei wird nicht etwa nur Kochsalz während der Wasserdiurese mitgerissen, vielmehr wird auch dem Orasthin eine eigene kochsalzausschwemmende Wirkung zukommen, denn Hypophysin bzw. die Mischung von Orasthin und Tonephin erzeugt eine höhere Kochsalzkonzentration und höhere absolute Ausscheidung als Tonephin allein, auch wenn die Harnmenge durch die Vasopressinwirkung beträchtlich verringert ist. Die dem Orasthin zukommende Kochsalzmenge wird also auch bei geringerer Gesamtharnmenge ausgeschieden. Wenn daher unter bestimmten Bedingungen Orasthin auch eine Wirkung auf die Kochsalzkonzentration haben kann, ist gegen die auf der Feststellung der Kochsalzkonzentration beruhende Marxsche Methode der Vasopressinbestimmung einzuwenden, daß sie nur bei einem bestimmten Verhältnis von Oxytocin und Vasopressin richtige Werte ergibt. Dementsprechend ist gegen die auf der Feststellung der harnhemmenden Wirkung beruhende Burnsche Methode der Vasopressinbestimmung einzuwenden, daß sich auch hier unter bestimmten Bedingungen antagonistische Wirkungen des Oxytocins zeigen können.

[15] Fromherz, K.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **100**, 1 (1923). — [16] Frey, E.: Ebenda **187**, 221 (1937).

Zusammenfassung.

1. In Hypophysenhinterlappen-Präparaten befindet sich eine Substanz mit diuretischer Wirkung.

2. Diese Diurese ist nicht durch die Beimengung kleiner Mengen von Vasopressin bewirkt.

3. Gleichzeitig mit der Diurese wird Kochsalz ausgeschwemmt, so daß bei gleichbleibender oder sogar steigender Konzentration die absolute Kochsalzausscheidung größer ist als nach Vasopressin.

4. Die dem Orasthin zukommende Kochsalzmenge wird auch bei einer durch Vasopressin verringerten Gesamtharnmenge ausgeschieden.

5. Wegen seiner guten diuretischen Wirkung bei der Ratte scheint der besprochene Wirkstoff nicht mit dem aus dem Vorderlappen stammenden diuretischen Prinzip identisch zu sein.

6. Obgleich manches dafür spricht, daß die diuretische Substanz Beziehungen zum Oxytocin hat, ist die Identität mit dem Oxytocin nicht erwiesen.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Peter Pázmány-Universität zu Budapest.

Über die Pharmakologie der gefäßverengernden Stoffe der Blutseren. II.

Quantitative Untersuchungen über die gefäßverengernden Stoffe der Blutseren und aus ungeronnenem Gesamtblut hergestellter Extrakte unter verschiedenen Bedingungen.

Von

A. Simon und **E. Komlós.**

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 26. April 1939.)

Nach den Arbeiten von Simon[1] ist die Blutdruckmessung an dekapitierten Ratten — wenn mit entsprechender Übung ausgeführt — eine genaue, empfindliche und einfache Methode zum Studium der in Blutseren entstehenden gefäßverengernden Stoffe. Eine quantitative Untersuchung der in Frage stehenden Stoffe schien uns umso mehr als angezeigt, da sich nach O'Connor[2] diese möglicherweise an der spontanen Stillung von Blutungen beteiligen könnten. Im Verlaufe der Untersuchungen boten sich uns folgende Fragen zur Lösung an, auf die wir in der vorliegenden Arbeit eine Antwort zu geben versuchen: 1. Ist der Gehalt an gefäßverengerndem Stoff in den Blutseren zur selben Art gehörender verschiedener Individuen gleich? 2. Verändert sich die Menge dieses Stoffes bei einer Anämie? 3. Schließlich suchten wir mit Hilfe unserer Methode auch festzustellen, ob wir den von H. Freund[3] im kreisenden Blute nach Heteroproteinbehandlung entdeckten (normalerweise nicht vorhandenen) gefäßverengernden Stoff gleicherweise auffinden könnten, und wenn ja, ob dieser Stoff mit den in Blutseren entstehenden Stoffen gleicher Natur, identisch sei.

Zum quantitativen Studium dieser Stoffe war es unerläßlich, zunächst in Vorversuchen eine Methode auszuarbeiten, mit Hilfe derer man aus demselben Blute eine fixe und möglichst große Menge des β-Thrombovasins gewinnen kann. Wir hatten nämlich den Verdacht, daß bei einfacher Gerinnung des Blutes nach der Entnahme, dieser Stoff an das Gerinnsel gebunden werden könnte und so nach dem Zentrifugieren nicht in das Plasma gelangen würde. Wir erhielten auch tatsächlich von den nach Mosen[4] hergestellten Thrombocytensuspensionen, die in physiologischer Kochsalzlösung mittels Glasperlen 10 Minuten lang geschüttelt wurden, aus dem

[1] Simon, A.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **190**, 273 (1938); **187**, 678 (1937). — [2] O'Connor, J. M.: Ebenda **67**, 95 (1912). — [3] Freund, H.: Ebenda **91**, 272 (1921). — [4] Mosen, R.: Arch. Anat. Physiol. Abt., 1893, S. 352.

gleichen Blute meistens höhere Blutdrucksteigerungen als von gewöhnlichen Seren. Wir ließen dieses sehr umständliche und zeitraubende Verfahren fallen, als wir feststellen konnten, daß einfaches, mittels Glasperlen defibriniertes Blutserum, die gleichen Werte liefert. Die weiteren Versuche wurden mit nach dieser letzteren Methode hergestellten Katzenseren unternommen, da diese bei der Blutdruckmessung an Ratten keine Immunität hervorrufen.

Quantitative Untersuchungen an Seren normaler Tiere.

In diesen Versuchen wollten wir auf die in der Einleitung aufgeworfene erste Frage antworten. Es wurden die Blutseren von insgesamt 16 Katzen

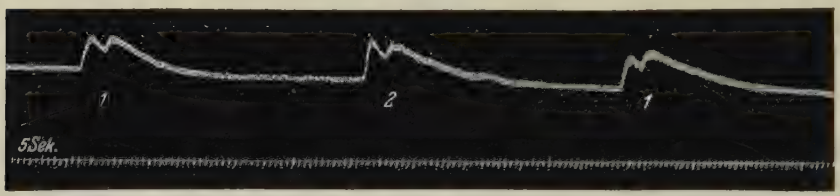


Abb 1. Blutdruck der dekapitierten Ratte. Bei 1: 0,5 ccm defibriniertes Katzenserum. Bei 2: 0,5 ccm defibriniertes Serum einer anderen Katze i. v.

verarbeitet. An einer Ratte wurde die blutdrucksteigernde Wirkung jeweils von zwei bis drei verschiedenen zur gleichen Zeit entnommenen Seren untersucht, die möglichst von Tieren gleichen Gewichtes herstammten. Wie es auch aus Abb. 1 hervorgeht, verursachen bestimmte Mengen gleichaltriger und gleichartig hergestellter Seren annähernd gleiche Blutdruckerhöhungen. Die in ihnen enthaltene Menge des β-Thrombovasins ist also annähernd gleich groß. Mitunter konnten trotzdem auch Unterschiede bis zu 50 % verzeichnet werden.

Wir untersuchten außerdem auch einige Menschenseren, deren gefäßverengernder Stoff jedoch nach Simon nicht mit dem der Katzenseren identisch ist. Die quantitativen Untersuchungen werden an solchem Material sehr erschwert durch die Immunität, die oft schon nach der zweiten bis dritten Injektion eintritt. Unter 6 gegenwärtig Wa. R. negativen Seren zeigten 5 annähernd gleiche Blutdruckerhöhungen, die Wirkung eines Serums war um 50 % geringer. Zwei anderweitig entnommene verschiedene Seren ergaben auch gleiche Werte. Die Blutseren von 6 weiteren Individuen konnten wegen früh einsetzender Immunität nicht quantitativ geprüft werden. Die zu diesen Versuchen verwendeten Blutseren wurden durch einfaches Gerinnenlassen des Blutes gewonnen. Um aus diesen Befunden eine endgültige Schlußfolgerung ziehen zu können, müßte man sie noch an einem größeren Material überprüfen.

Quantitative Untersuchungen an Seren anämischer Tiere.

Zu diesen Versuchen wurden 4 Kaninchen und 3 Katzen mittels Blutentnahmen anämisiert. Von 2 etwa 2000 g schweren Kaninchen wurden auf einmal 30—40 ccm von einer 4000 g wiegenden Katze 50 ccm Blut entnommen. Von zwei anderen etwa gleich großen Kaninchen wurden innerhalb von 3—4 Tagen 60—80 ccm, und von einer 2500 g wiegenden Katze die gleiche Menge Blut entnommen. Von einer 3500 g schweren Katze wurden innerhalb von 6 Tagen 120 ccm Blut in drei Teilen entnommen. Nach jeder Blutentnahme wurde eine entsprechende Menge physiologischer Kochsalzlösung subcutan verabreicht. Zur Bestimmung der gefäßverengernden

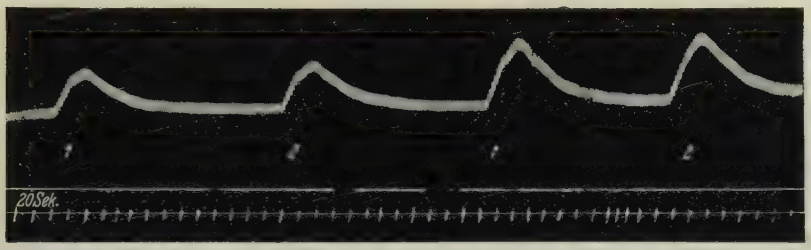


Abb. 2. Blutdruck der dekapitierten Ratte. Bei 1: 0,5 ccm defibriniertes Serum einer anämisierten Katze. Bei 2: 0,5 ccm defibriniertes Serum einer gleich schweren Kontrollkatze i. v.

Stoffe haben wir Blutproben stets 1—2 Tage nach der letzten anämisierenden Blutentnahme genommen. Einen Unterschied in der Wirkung anämisierter und normaler Blutseren konnten wir in keinem Falle verzeichnen. Der akute Blutverlust übt mithin auf die Menge des Thrombovasins keinen feststellbaren Einfluß aus. Abb. 2 veranschaulicht das Ergebnis eines solchen Versuches.

Der Gehalt des Blutes an gefäßverengernden Stoffen nach Heteroproteinbehandlung.

Nach Freund erscheinen bei Heteroproteinbehandlung im kreisenden Blut zunächst gefäßerweiternde, später aber gefäßverengernde Stoffe, die normalerweise nicht vorhanden sind. Diese gefäßverengernden Stoffe konnten mittels alkoholischer Extrakte aus Frischblut an isolierten Organen nachgewiesen werden. In unserer ersten Versuchsserie suchten wir diese Stoffe in Oxalat und Citratplasma nachzuweisen. Die ersten drei Kaninchen wurden nach Freund mit 1,0 ccm Caseosan behandelt, das Citratplasma des eine Woche später entnommenen Blutes wurde einer dekapitierten Ratte binnen 15 Minuten intravenös verabreicht. Diese Plasmamengen verursachen keine Blutdruckerhöhungen, oder nur solche, wie man sie auch beim Plasma normaler Kontrolltiere beobachten kann. In einer weiteren Versuchsserie wurde 4 Kaninchen anstatt Caseosan, 1,0 ccm Milch intramuskulär verabreicht, worauf die Tiere im Gegensatz zur Caseosanbehand-

lung, mit Fieber reagierten. In den 6 Tage nach der Injektion entnommenen Blutproben konnten wir keinen gefäßaktiven Stoff nachweisen.

Das negative Ergebnis dieser Versuchsserien legte uns den Gedanken nahe, daß nach Milchinjektionen in das kreisende Blut nur so geringe Mengen des gefäßaktiven Stoffes gelangen, daß diese in den zur Blutdruckmessung verwendeten 0,5 ccm Blutplasma nicht mehr nachweisbar wären. Aus diesem Grunde stellten wir aus dem Frischblut von 12 vorbehandelten Kaninchen alkoholische Extrakte her, und zwar wurde um einen Zerfall der Blutplättchen gänzlich zu verhüten, bei 6 Tieren das Blut mit Hilfe einer paraffinierten Kanüle aus der Arteria carotis entnommen. Unser Verfahren zur Herstellung des Extraktes ist dem von Freund sehr ähnlich. 10 ccm Blut werden unmittelbar aus der Kanüle in 60 ccm Alkohol aufgefangen und eine Stunde lang in einer Schüttelmaschine geschüttelt, sodann für eine Nacht im Eisschrank aufbewahrt. Tags darauf wird der Niederschlag durch Büchner-Filter filtriert und nachher unter vermindertem Druck bei 50° C getrocknet. Der Rückstand wurde meist in 1,5 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgenommen; von der Lösung wurden dann 0,2—0,5 ccm dekapitierten Ratten intravenös verabreicht, um den Gehalt an gefäßverengerndem Stoff zu prüfen.

Schon die ersten Versuche ergaben als unerwartetes Ergebnis, daß nicht nur der Frischblutextrakt der mit Milch vorbehandelten Tiere, sondern auch der der Kontrolltiere eine Blutdruckerhöhung verursachte, ja zuweilen war die Wirkung der Kontrollextrakte größer als die der vorbehandelten Tiere. In weiteren Versuchen konnten wir diese Befunde bestätigen.

Über die Natur des gefäßverengernden Stoffes in Extrakten aus frischem, ungeronnenem Gesamtblut.

Angesichts der obigen Ergebnisse mußten wir uns zwei Fragen vorlegen: 1. Ob der in Frischblutextrakten nachweisbare gefäßverengernde Stoff mit dem in Blutseren beim Stehen infolge des Zerfalls der Thrombocyten entstehenden Stoff identisch ist? 2. Ob der in Frage stehende Stoff frei in dem kreisenden Blute vorkommt, oder erst durch den Alkohol aus seinem gebundenen Zustand befreit wird?

Bei genauerer Überprüfung des ersteren Problems war es zunächst wichtig, die Möglichkeit einer Histaminwirkung auszuschließen, da bekanntlich im Blute des Kaninchens größere Mengen Histamin vorkommen, die an dekapitierten Ratten, hauptsächlich durch Steigerung der Adrenalinsekretion blutdruckerhöhend wirken können.

Da das Blut der Katzen etwa nur den hundertsten Teil der Histaminmenge enthält, die man im Kaninchenblute vorfindet, stellten wir nach der obenerwähnten Methode aus dem Blute von 7 Katzen Extrakte her. Diese Extrakte zeigten in gleichen Mengen verwendet, Wirkungen der gleichen Größenordnung, wie Kaninchenblutextrakte. Auch verursachten diese Extrakte am adrenalektomierten und dekapitierten Tiere dieselbe

Blutdruckerhöhung, wie an nicht adrenalektomierten (Abb. 3). Dagegen wird an diesen Präparaten durch Histaminmengen von 2–5 γ entweder überhaupt keine Wirkung, oder gar Blutdrucksenkung hervorgerufen. Diese Versuche schließen die Möglichkeit, daß die in Frage stehenden Wirkungen durch Histamin oder einen histaminähnlichen Stoff hervorgerufen sein könnten, mit Sicherheit aus.

Frühere Versuche von Simon[1] zeigten, daß die Wirkung des gefäßverengernden Stoffes der Kaninchen- und Katzenblutseren durch Cocain sensibilisiert, durch Ergotmain dagegen vernichtet oder in eine Gefäßerweiterung umgekehrt wird. Diese Eigenschaft ermöglichte nun einen Vergleich zwischen den Frischblutextrakten und dem gefäßverengernden Stoff der geronnenen Seren. Diesbezügliche Versuche, wie die auch in

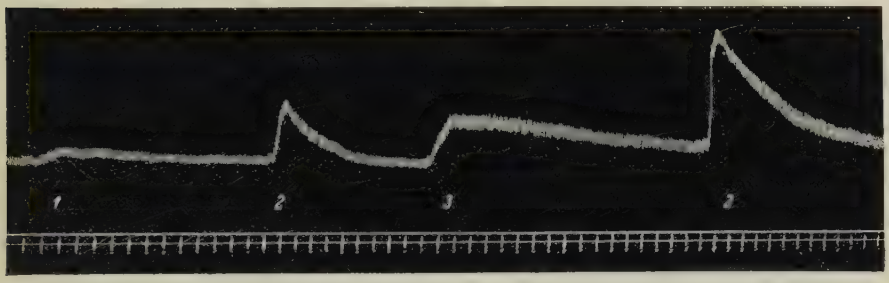


Abb. 3. Blutdruck der dekapitierten und adrenalektomierten Ratte. Bei 1: 0,5 ccm phys. Kochsalzlösung. Bei 2: 0,25 ccm Frischblutextrakt einer Katze. Bei 3: 0,25 mg Cocain mur. i. v.

Abb. 3 und 4 veranschaulichten zeigten keinen Unterschied im Verhalten der beiden Stoffe. Sie scheinen demnach wenigstens was ihre pharmakologischen Eigenschaften betrifft, identisch zu sein.

In Anbetracht dessen, daß 1,0 ccm Kaninchen- oder Katzenplasma, binnen 15 Minuten nach der Blutentnahme verabreicht meistens keine, geringere Mengen Frischblutextrakt dagegen deutliche Blutdruckerhöhungen hervorriefen, darf wohl darauf geschlossen werden, das der gefäßverengernde Stoff nicht frei im Blute kreist, sondern nur durch die Alkoholextraktion befreit wird. Es ist jedoch zu bemerken, daß zuweilen auch frisches Katzenplasma, unter 50 Fällen in 6, eine Blutdrucksteigerung hervorrief. Diese Wirkung darf jedoch nicht dem β-Thrombovasin zugeschrieben werden, da der Verlauf der Blutdruckkurve ein anderer, als bei Thrombovasinwirkung ist. Der Anstieg, sowie der Abfall der Kurve zieht sich längere Zeit hin. Auch ließ sich diese Wirkung durch Cocain nicht beeinflussen, wir wir es in drei unserer Fälle nachweisen konnten (Abb. 5). Weiter wurde diese Frage nicht analysiert.

Des weiteren wurden noch Versuche mit sechs nach dem gleichen Verfahren hergestellten Alkoholextrakten aus menschlichen Blutseren angestellt. Diese Extrakte erwiesen sich jedoch an dekapitierten Ratten als wirkungslos.

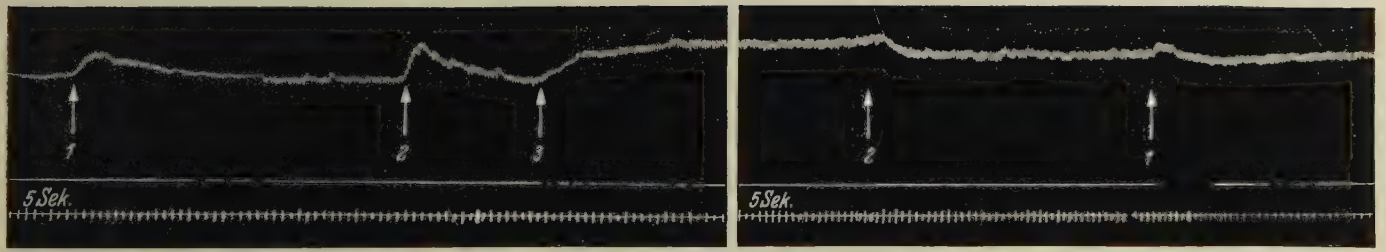


Abb. 4. Blutdruck der dekapitierten Ratte. Bei 1: 0,2 ccm Frischblutextrakt eines Kaninchens. Bei 2: 0,2 ccm Frischblutextrakt eines anderen Kaninchens. Bei 3: 0,25 mg Ergotamin bitartarat. i. v.

Abb. 5. Blutdruck der dekapitierten Ratte. Bei 1a) und 1b): 0,5 ccm Katzenplasma. Bei 2: 0,2 mg Cocain mur. i. v.

Besprechung.

Unsere Versuche zeigten, daß die Menge des β-Thrombovasins bei Katzen, unter gleichen Lebensbedingungen, im Blutserum im großen und ganzen die gleiche ist. Auffallenderweise ist die Menge des gefäßverengernden Stoffes bei, durch akute Blutverluste hervorgerufenen Anämien nicht verändert. Da wir Zählungen der Blutplättchen nicht vorgenommen haben, können wir diese Befunde mit der Blutplättchenzahl nicht in Beziehung bringen.

Als interessantestes und wichtigstes Ergebnis unserer Untersuchungen, konnten wir feststellen, daß man durch Extraktion mit Alkohol auch aus dem frischen Blute von unbehandelten Katzen und Kaninchen einen gefäßverengernden Stoff gewinnen kann, der höchstwahrscheinlich mit dem während dem Stehen in Blutseren infolge der Zerstörung der Thrombocyten entstehenden Stoffe identisch ist. Hieraus läßt sich schließen, daß dieser Stoff nicht wie Freund vermutet durch fermentativen Abbau aus den Thrombocyten entsteht, sondern, daß er schon in fertigem Zustande irgendwie an die Blutplättchen gebunden kreist und durch die Alkoholbehandlung aus den zerstörten Blutplättchen extrahiert wird. Dieser unbekannte, hinsichtlich seiner Wirkung adrenalinähnliche Stoff ist kein Histamin, aber auch kein Adrenalin aus der Nebenniere, da wie Simon nachwies, derselbe auch in adrenalektomierten Katzenseren, und zwar mehrere Tage nach der Operation in großen Mengen nachweisbar ist. In alkoholischen Extrakten von frischem Menschenblut konnten wir diesen Stoff nicht nachweisen.

Zusammenfassung.

Bei Untersuchung der blutdrucksteigernden Wirkung von Blutseren und alkoholischen Extrakten aus frischem, ungeronnenem Gesamtblut am Blutdruck dekapitierter Ratten, konnten folgende Befunde erhoben werden:

1. Der Gehalt an gefäßverengerndem Stoff in verschiedenen gleichaltrigen Katzenseren ist in der Mehrzahl der Versuche annähernd derselbe.

2. Bei Aderlaßanämie von Kaninchen und Katzen verändert sich die Menge des blutdrucksteigernden Stoffes nicht.

3. Der Gehalt an diesem Stoff des Blutes ändert sich im Gegensatz zu den Feststellungen Freunds auch nach Heteroproteinbehandlung nicht.

4. Aus frischem, ungeronnenem Katzen- und Kaninchenblute hergestellte alkoholische Extrakte zeigen eine blutdrucksteigernde adrenalinähnliche Wirkung. Die Wirkung solcher Extrakte stimmte mit der von 7—24 Stunden alten Seren derselben Tiere überein, d. h. es zeigte sich eine Sensibilisation durch Cocain, und eine Umkehrung der Wirkung in Blutdrucksenkung durch Ergotamin. Im kreisenden Blute befindet sich dieser Stoff wahrscheinlich in gebundenem Zustande.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin.

Zur Toxikologie des p-Sulfanilamido-acetophenons.

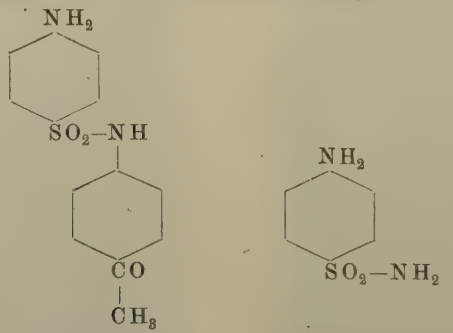
Von

H. Möller.

(Eingegangen am 25. Mai 1939.)

Das steigende klinisch-therapeutische Interesse an sulfonamidhaltigen Verbindungen veranlaßt mich, meine toxikologischen Erfahrungen mit einem neuen Präparat dieser Gruppe bekanntzugeben. Es handelt sich um das p-Sulfanilamido-acetophenon. Zum Vergleich wurde das p-Aminobenzolsulfonsäureamid (Sulfanilamid) untersucht, über dessen Toxizität die meisten Mitteilungen der Literatur vorliegen und das auch praktisch die ausgedehnteste Verwendung gefunden hat. Während aus Deutschland verhältnismäßig selten über unerwünschte Nebenwirkungen und Schädigungen durch sulfonamidhaltige Verbindungen berichtet wird, nimmt die Zahl derartiger Veröffentlichungen in der angelsächsischen und skandinavischen Literatur fortgesetzt zu. Beim Menschen sind einerseits Blutschädigungen bei hohen und zu lange Zeit hindurch verabreichten Gaben in Form von Methämoglobinämie, Sulfhämoglobinämie, Agranulocytose und Anämie beobachtet worden. Andererseits wurden Nervenerscheinungen in Form von Sensibilitätstörungen und Lähmungen, Hautaffektionen und Ikterus gesehen. Eine ausgezeichnete Zusammenfassung der einschlägigen Literatur gibt Taeger (1). Nach den Untersuchungen im Forschungslaboratorium von E. Merck, Darmstadt, erschien die obenerwähnte Verbindung aussichtsreich und wurde mir zur eingehenden toxikologischen Durchprüfung zur Verfügung gestellt*.

„Im p-Sulfanilamido-acetophenon ist der Sulfanilamidrest über das Amid-Stickstoffatom mit einem aromatischen Keton, dem Phenylmethylketon, verbunden. Die Formelbilder mögen den Zusammenhang zeigen:



p-Sulfanilamido-acetophenon ($C_{14}H_{14}O_3N_2S$) — Sulfanilamid — Phenylmethylketon

* Für die Überlassung der Substanzmengen und der chemischen Daten sage ich der Firma Merck meinen besten Dank.

Die Substanz bildet ein schwach gelbstichiges, weißes Kristallpulver, das bei 207—209° nach Sintern schmilzt. Auffallend ist die außerordentlich geringe Löslichkeit des Präparates in Wasser. Leichter löslich ist es in verdünnten Alkalilaugen und in Ammoniak, ebenso in heißem Methanol und Aceton. Das Molekulargewicht beträgt 290 und ist damit etwa das 1.7fache des nicht substituierten Sulfanilamids. In diesem Verhältnis erwies sich auch das p-Sulfanilamido-acetophenon im chemo-therapeutischen Versuch an der streptokokken-infizierten Maus als weitgehend wirkungsgleich mit dem Sulfanilamid." (Untersuchungen aus dem Hauptlaboratorium der Firma Merck.)

Meine Versuche erstreckten sich auf die akute Vergiftung, die chronische Wirkung und die Ausscheidungsverhältnisse dieser Verbindung. Wenn auch bei den verschiedenen Versuchstieren hinsichtlich der Schwere der Vergiftungserscheinungen erhebliche individuelle Unterschiede festzustellen sind, so lassen sich doch Toleranzdosis und charakteristische Vergiftungserscheinungen ziemlich genau bestimmen.

Akute Vergiftung bei der Maus.

Buttle, Gray und Stephenson (2) verabreichten Sulfanilsäureamid oral an Mäuse in einer Suspension von Gummi arabicum; nach 5 mg starben von 6 Mäusen 2, nach 10 mg/g starben alle Tiere. Zu ähnlichen Ergebnissen gelangten Halpern und Mayer (3), Marshall, Cutting und Emerson (4) sowie Rosenthal (5).

Die Präparate wurden den Versuchstieren in einer Suspension von Gummi arabicum mit der Magensonde verabreicht. In jeder Gruppe befanden sich 5 Tiere, deren Durchschnittsgewicht 19—23 g betrug. Jedes Tier wurde einzeln ausgewogen.

Tabelle 1. p-Sulfanilamido-acetophenon.

Gruppe	Dosis	1.	2.	3.	4.	5.	6. Tag	Ergebnis
I.	1 mg/g	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.	überleben
II.	2,5 „	„	„	„	„	„	„	„
III.	5,0 „	„	„	„	„	„	„	„
IV.	5,0 „	„	„	„	„	„	„	„
V.	10,0 „	„	„	„	„	„	„	„

Bei der Verabreichung von p-Sulfanilamido-acetophenon in steigenden Dosen zeigen die Tiere keinerlei Schädigungen. Größere Mengen sind entsprechend der Größe der Tiere nicht anwendbar.

Das Verhalten der in gleicher Weise mit Sulfanilsäureamid behandelten Tiere zeigt Tabelle 2.

Ein Vergleich der beiden Versuchsgruppen läßt also eine deutliche Schädigung durch Sulfanilamid gegenüber p-Sulfanilamido-acetophenon zutage treten. Selbst bei Berücksichtigung des höheren Molekulargewichtes ist bei der höchsten Dosierung von p-Sulfanilamido-acetophenon (10 mg/g)

Tabelle 2. Sulfanilamid.

Gruppe	Dosis	1.	2.	3.	4.	5.	6. Tag	Ergebnis
I.	1 mg/g	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.	überleben
II.	2,5 „	st. beschleun. Atmung	„	„	„	„	„	„
III.	2,5 „	dasselbe	„	„	„	„	„	„
IV.	5,0 „	st. beschleun. Atmung und Krämpfe	3 Tiere tot	1 Tier munter, 1 Tier st. Bewegungsarmut	wie am 3. Tage	1 Tier tot		1 Tier überlebt
V.	10,0 „	+	—	—	—	—	—	im Verlauf von 8 Std. alle Tiere tot

keinerlei Nebenwirkung oder Schädigung zu bemerken, wohingegen die mit Sulfanilsäure behandelten Tiere auch unter Berücksichtigung äquimolekularer Mengen (5,9 mg/g) deutliche Vergiftungserscheinungen erkennen ließen. Schon bald nach der Einverleibung des Präparates befinden sich die Tiere in Seiten- oder Bauchlage. Der Gang wird taumelnd und unsicher, die Hinterfüße werden nachgeschleppt. Ferner konnte man Streckkrämpfe, besonders der hinteren Gliedmaßen beobachten. Die anfangs stark beschleunigte Atmung war später (nach etwa 2 Stunden) stark verlangsamt. Mit der Verlangsamung der Atmung gingen die Erregungszustände zurück.

Akute Vergiftung an der Ratte.

Für Ratten geben Halpern und Mayer bei oraler Darreichung 4 mg/g als tödliche Dosis an. Meine Versuche zeigten bei ausgewachsenen Tieren (160—180 g) erst bei wesentlich höheren Dosen eine entsprechende Wirkung, worüber die nachfolgende Tabelle 3 unterrichtet.

Dagegen befanden sich die Tiere nach der Verabreichung gleich großer Mengen p-Sulfanilamido-acetophenon sehr wohl und zeigten keinerlei krankhaften Befund (Tabelle 4).

Alle Versuchstiere erhielten die Präparate durch Magensonde in $^1/_{20}$ des Körpergewichtes in Wasser aufgeschwemmt. Jedes Tier wurde für sich ausgewogen. Auch in dieser Versuchsreihe kommt also ein sehr deutlicher Unterschied in der Verträglichkeit der Präparate zum Ausdruck. Die mittlere letale Dosis für Sulfanilsäure für Ratten fand ich bei 11 mg/g. Die äquimolekulare Menge p-Sulfanilamido-acetophenon hierzu würde 19 mg/g betragen. Aber auch hier sind größere Dosen als 15 mg/g nicht anwendbar, da die Pulvermenge zu groß wird.

Tabelle 3. Sulfanilamid.

Gruppe	Dosis	1.	2.	3.	4.	5.	6. Tag	Ergebnis
I.	1,0 mg/g	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.	überleben
II.	2,5 „	„	„	„	„	„	„	„
III.	5,0 „	beschl. Atmung	„	„	„	„	„	„ (geringe Gewichtszunahme)
IV.	10,0 „	beschl. Atmung, Bauch- u. Seitenlage	„	„	„	„	„	überleben (geringe Gewichtszunahme)
V.	11,0 „	dasselbe	5 Tiere tot	„	„	„	„	3 Tiere überleben
		10—15 Minuten nach Sondieren Seitenlage, Streckkrämpfe, Temperatur stark erniedrigt.						
VI.	12,5 „	$1 - 1^1/_4$ Std. nach Sondieren Temperatur unter 35°, 5 Tiere tot						5 Tiere tot nach 24 Std.
VII.	15,0 „	Bauch- u. Seitenlage wie oben	5 Tiere tot	—	—	—	—	5 Tiere tot nach 24 Std.

Tabelle 4. p-Sulfanilamido-acetophenon.

Gruppe	Dosis	1.	2.	3.	4.	5.	6. Tag	Ergebnis
I.	1,0 mg/g	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.	überleben
II.	2,5 „	„	„	„	„	„	„	„
III.	5,0 „	„	„	„	„	„	„	„
IV.	10,0 „	„	„	„	„	„	„	„
V.	15,0 „	„	„	„	„	„	„	„

Akute Vergiftung an der Katze.

In einer weiteren Versuchsgruppe wurde p-Sulfanilamido-acetophenon und Sulfanilsäureamid an Katzen verabreicht. Meine Beobachtungen sind in Tabelle 5 niedergelegt.

Tabelle 5.

Katze I	Katze II
Gewicht 3,2 kg, erhielt 6,0 g p-Sulfanilamido-acetophenon. In den nächsten Stunden nach dem Sondieren nichts Auffälliges. Das Tier wurde 6 Tage beobachtet, ein krankhafter Befund war nicht zu erheben.	Gewicht 2,8 kg, erhielt 6,0 g Sulfanilsäureamid. Nach 30 Minuten stark beschleunigte Atmung. Nach 2 Stunden liegt das Tier auf der Seite, Atmung verlangsamt, aufgetrieben schleppt es sich unter taumelndem Gang fort. Erbrechen. Im Laufe der nächsten Stunden tot.

Tabelle 6. Chronische Verabreichung an Katzen.

p-Sulfanilamido-acetophenon	Sulfanilsäureamid
Katze I. 8. Sept. 38. 3,5 kg. 3 mg/g. 16. Sept. 38. 3,4 kg. 4 mg/g. 21. Sept. 38. 3,15 kg. 6 mg/g. Erbricht während der Sondierung. 30. Sept. 38. 2,85 kg. Versuch beendet. Befinden: unverändert.	Katze II. 8. Sept. 38. 2,3 kg. 3 mg/g. $^1/_2$ Std. nach dem Sondieren: Erbrechen und Seitenlage, stark beschleunigte Atmung. 16. Sept. 38. 2,7 kg. 4 mg/g. Kurze Zeit nach dem Sondieren Erbrechen, Seitenlage, nach 24 Std. erholt. 21. Sept. 38. 2,75 kg. 6 mg/g. Nach kurzer Zeit wiederum Erbrechen, Seitenlage, beschleunigte Atmung, starker Speichelfluß noch nach 24 Std. 30. Sept. 38. 3,0 kg. Versuch beendet.
Katze III. 5. Sept. 38. 3,2 kg. 2 mg/g. 20. Sept. 38. 3,3 kg. 4 mg/g. 21. Sept. 38. Schlecht gefressen. 30. Sept. 38. 3,55 kg. Versuch beendet.	Katze IV. 5. Sept. 38. 2,8 kg. 2 mg/g. 20. Sept. 38. 2,87 kg. 4 mg/g. 30 Min. nach Sondieren Erbrechen und Speichelfluß. 60 Min. nach dem Sondieren Seitenlage und beschleunigte Atmung. 21. Sept. 38. Erholt, aber wenig gefressen. 25. Sept. 38: tot.
Katze V. 2. Sept. 38. 3,2 kg. 1 mg/g. 3. Sept. 38. Gut gefressen. Während 6 tägiger Behandlung nichts Krankhaftes.	Katze VI. 2. Sept. 38. 2,2 kg. 1 mg/g. 3. Sept. 38. Schlecht gefressen. In den übrigen Tagen o. B.

Der Vergleich der beiden Versuchsreihen läßt deutlich erkennen, daß auch von Katzen p-Sulfanilamido-acetophenon besser vertragen wird als Sulfanilamid. Noch größere als die angegebenen Höchstdosen können den Tieren schwer beigebracht werden, daher konnten auch hier äquimolekulare Mengen Sulfanilamid und p-Sulfanilamido-acetophenon nicht verglichen werden. Die Untersuchungen sollten lediglich zum Nachweis dafür dienen, ob ein Unterschied in der Verträglichkeit beider Verbindungen bei größeren Säugern besteht.

Ausscheidungsversuche.

An einigen Beispielen möchte ich noch einiges über die Ausscheidung der Präparate zeigen. Hunden wurden bestimmte Dosen beider Präparate durch Magensonde beigebracht. Mittels einer unten aufgeführten Methode wurde die Ausscheidung der Präparate im Urin geprüft. Es kam mir bei diesen Versuchen nicht so sehr darauf an, den frühesten Zeitpunkt der Ausscheidung zu erfassen, sondern wichtiger erschien mir die Feststellung, nach wieviel Stunden bzw. Tagen im Harn der chemische Nachweis noch gelingt. Denn diese Frage scheint für die therapeutische Verwendung wie auch zur Erklärung eventuell auftretender Schäden von größerer Bedeutung.

Ich bediente mich dabei der von Marshall, Emerson und Cutting(4) beschriebenen Methode, die auf der Diazotierung der am Benzolkern sitzenden Aminogruppe und Kuppelung der gebildeten Diazoverbindung in saurer Lösung mit α-Naphthylamin (Marshall, Emerson und Cutting benutzten Dimethyl-α-naphthylamin) beruht.

Zur Bestimmung des Sulfanilamids und p-Sulfanilamido-acetophenons im Harn wird 1 ccm Harn mit 10 ccm Wasser aufgefüllt und hintereinander nach jedesmaligem Umschütteln 1 ccm binormale Salzsäure, 3 Tropfen

Tabelle 7.

Präparat	Dosis	Farbstoffausscheidung
p-Sulfanilamido-acetophenon (Hund, 6,0 kg)	2,0 g	nach 90 Min. schw. + „ 24 Std. +++ „ 48 „ ++ „ 70 „ g. schw. + „ 86 „ 0
Sulfanilsäureamid (Hund, 6,5 kg)	2,0 g	nach $5^1/_2$ Std. +++ „ 30 „ +++ „ 57 „ ++ „ 77 „ g. schw. + „ 90 „ 0
p-Sulfanilamido-acetophenon (Hund, 6,7 kg)	2,3 g	6. Okt., 16.00 (Magensonde) 7. „ 8.55 +++ 7. „ 15.10 +++ 8. „ 10.00 ++ 9. „ 12.00 + 10. „ 12.00 + 11. „ 9.00 (+) 12. „ 14.00 g. schw. + 13. „ 14.00 0
Sulfanilsäureamid (Hund, 6,0 kg)	2,0 g	27. Sept. 10.30 (Magensonde) 27. „ 19.00 +++ 28. „ 8.00, 11.00, 17.00 +++ 29. „ 8.00 +++ 20.00 ++ 30. „ 8.00 + 1. Okt., 8.00 0

0,1 %ige Nitritlösung und 1 ccm $^1/_{10}$ n α-Naphthylaminchlorhydratlösung zugesetzt. Zur Herstellung des zuletzt genannten Reagens löst man 1,43 g α-Naphthylamin in 100 ccm $^1/_{10}$ n Salzsäure. Die Reaktion ist positiv, wenn sofort oder innerhalb einer Minute Rotfärbung auftritt.

Es verdient festgestellt zu werden, daß neuerdings auch andere chemische Nachweismethoden für Abkömmlinge des Sulfanilamids ausgearbeitet wurden, z. B. die Reaktion mit Dimethylbenzaldehyd, die der vorstehenden Methode in mancher Beziehung überlegen sind.

Tabelle 7 bringt einige vergleichende Versuche:

Die Ausscheidung beider Präparate geht im großen und ganzen nach diesen Befunden parallel und wird durch die Schwerlöslichkeit des p-Sulfanilamido-acetophenons nicht beeinflußt. Quantitative Bestimmungen wurden nicht vorgenommen, ebenso nicht die Untersuchung der Fäces. Letzteres könnte Gegenstand weiterer Untersuchungen werden.

Zusammenfassung.

Sinn der angestellten Versuche sollte ein Vergleich beider Präparate bezüglich ihrer Verträglichkeit bzw. Toxizität sein. Die Prüfung an Mäusen, Ratten und Katzen zeigt deutlich, daß bei obiger Fragestellung das p-Sulfanilamido-acetophenon dem Sulfanilamid wesentlich überlegen ist. Ich bin mir bewußt, daß die verabreichten Mengen außerhalb der therapeutischen Dosierung liegen und nur aus der Versuchsanordnung heraus berechtigt sind.

Literatur.

(1) Taeger in „Führer-Wieland, Vergiftungsfälle“ **9**, 49—68 (1938). — (2) Buttle, Gray u. Stephenson: Lancet **1936**, S. 1286. — (3) Halpern u. Mayer: Presse méd. 1937, S. 747. — (4) Marshall, Emerson u. Cutting: J. amer. med. Assoc. **108**, 953 (1937). — (5) Rosenthal, zit. nach Taeger: Publ. Health. Rep. **52**, 192 (1937).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Köln.
(Direktor: Prof. J. Schüller.)

Die Kombinationswirkung von Novocain und Harnstoff am motorischen Nerven des Frosches*.

Von

Adolf Guntermann.

(Eingegangen am 26. Mai 1939.)

Die Pharmakologie des Harnstoffs wurde durch die Untersuchungen von M. Baur [1] in ein neues Licht gerückt. Baur wies nach, daß Harnstoff die Permeabilität der Zellwand steigert und so den Eintritt von Farbstoffen und anderen gelösten Substanzen in die Zelle fördert oder überhaupt erst ermöglicht. So steigert Harnstoff die Wirksamkeit oder „Giftigkeit" von Strychnin (Dellen [2], Utz [3]), Morphin (Keeser [4]) und Digitalis (Kohn und Costopanagiotis [5]).

Bei diesen Befunden erschien der Versuch aussichtsreich, diese Harnstoffwirkung an einem Vorgang zu prüfen, bei dem es erwünscht wäre, wenn ein wirksamer Stoff die Plasmagrenzschicht der Zelle leichter durchdringen könnte, der Lokalanästhesie.

Die Versuche wurden mit dem Nervmuskelpräparat von Rana temporaria ausgeführt. In der üblichen Weise präpariert wurde der Nerv so über zwei Reizelektroden gelegt, daß die muskelnahe und muskelferne Nervenstrecke getrennt gereizt werden konnten und ein möglichst langes Zwischenstück in eine Paraffinwanne mit etwa 5 ccm der zu untersuchenden Lösung eintauchte. Es wurde also die Leitfähigkeit des motorischen Nerven geprüft. Die Versuche wurden in den Monaten August bis November ausgeführt. Raumtemperatur 17—20° C.

Der Muskel wurde in der üblichen Weise mit einem Schreibhebel verbunden. Zur elektrischen Reizung diente ein Schlittenindukторium mit 2 Volt im primären Stromkreise. Es wurde nur mit dem Öffnungsinduktionsstrom gereizt, der Schließungsstrom abgeblendet. Für die Präparation und die Herstellung sämtlicher Lösungen, auch der Harnstoff- und Anaestheticumlösungen — Novocain hydrochl. — wurde Frosch-Ringer nach Führer [6] (NaCl 24,0; KCl 0,3; $CaCl_2$ (trocken) 0,4; $NaHCO_3$ 0,4; Aq. dest. ad 4000,0) benutzt. Durch den konstanten Gehalt an Natriumbicarbonat (0,01 %) wird aus dem salzsauren Salz des Novocains ein bestimmter Prozentsatz von Novocain-Base in Freiheit gesetzt und somit die Wirksamkeit gegenüber der Novocainhydrochloridlösung um ein bestimmtes Maß gesteigert. Denn nach O. Gros [7] kommt die lokalanästhetische Wirkung nur der

* D 38.

[1] Baur, M.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **167**, 104 (1932). — [2] Dellen, A.: Inaug. Diss. Kiel 1932. — [3] Utz, R.: ebenda. — [4] Keeser, E.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **167**, 267 (1932). — [5] Kohn u. Costopanagiotis: Klin. Wschr. 1932, Nr. 37, S. 1552. — [6]) Führer, H.: „Nachweis und Bestimmung von Giften auf biologischem Wege". Berlin-Wien 1911. — [7] Gros, O.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **62**, 380, (1910); **63**, 80 (1910); **67**, 126 (1912); **67**, 132 (1912).

freien Anaestheticumbase, nicht dem Salz zu. Die Leitfähigkeit des Nerven galt als aufgehoben, wenn bei Reizung an der muskelfernen Nervenstrecke der Rollenabstand plötzlich auf einen geringen Wert (meist 120—100 mm) sank, bei dem nun, auch nach längerem Eintauchen des Nerven in die Anaestheticumlösung, stets eine unverkennbare „Schleifenreaktion" (C. G. Santesson[8], S. Flamm[9]) erfolgte.

Zunächst wurde die Wirkung von Harnstofflösung verschiedener Konzentration (ohne Novocain) auf die Nervenleitung geprüft: in Konzentrationen von 1—5 % veränderte Harnstoff, in Ringer gelöst, die Nervenleitung nach 13 Stunden nicht wesentlich. Die Rollenabstände waren bei Reizung an der muskelfernen Nervenstrecke etwas verkürzt, die Höhe der Maximalzuckung unverändert. Konzentrationen von 6 % an aufwärts verursachten eine irreversible Leitungsunterbrechung. Es wurden daher in den folgenden Versuchen nur Harnstofflösungen bis höchstens 2,5 % verwendet.

Bei den Kombinationsversuchen mit Novocain + Harnstoff waren vor allem zwei Fragen zu beantworten: 1. Werden unterschwellige Konzentrationen von Novocain durch Harnstoffzusatz wirksam? (Wirkungsverstärkung?) 2. Wird bei an sich schon wirksamen Novocainkonzentrationen durch Harnstoffzusatz der zeitliche Eintritt der Lähmung beschleunigt? (Wirkungsbeschleunigung?)

I. Versuche über Wirkungsverstärkung.

Mit der zeitlosen Methode (d. h. der Nerv bleibt unendlich lange, praktisch 12—24 Stunden in der Anaestheticumlösung) wurde als gerade nicht mehr wirksame Grenzkonzentration von Novocain hydrochl. (in Ringer gelöst!) 0,02 % ermittelt. In Lösungen von 0,02 % Novocain trat nach 21 Stunden keine Leitungsunterbrechung ein, während Novocain 0,03 % in fast allen Versuchen nach länger als 11 Stunden eine reversible Leitungsunterbrechung hervorrief. Durch einen Harnstoffzusatz von 2,5 % zu der an sich unwirksamen 0,02 %igen Novocainlösung wird diese nun, wie die folgenden Versuche zeigen, in relativ kurzer Zeit wirksam (siehe Tabelle 1).

Tabelle 1.

Versuchsnummer	Versuchstier	Links Novocain 0,02 %	Rechts Novocain 0,02 % + Harnstoff 2,5 %
		Keine Lähmung nach	Lähmung nach
40 a	♂ 48 g	17 Std.	weniger als 8 Std.
40 b	♀ 48 „	17 „	„ „ 8 „
42 a	♂ 48 „	23 „	etwa 5 Std.
43 a	♂ 50 „	21½ Std.	„ 5½ Std.
43 b	♂ 43 „	21½ „	„ 5½ „

[8] Santesson, C. G.: Festschrift Olaf Hammarsten 1906. — [9] Flamm, S.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **138**, 257 (1928).

Bei der langen Versuchsdauer wurde der genaue Zeitpunkt des Lähmungseintritts nicht immer genau ermittelt, so z. B. in den Versuchen 40a und 40b. Trotzdem wird bei dem Vergleich der Normal- mit den Harnstoffpräparaten der Harnstoffeffekt deutlich. In den Versuchen 42a—43b wurde der Eintritt der Leistungsunterbrechung bei den Harnstoffpräparaten — nach etwa $5^1/_2$ Stunden — annähernd genau beobachtet. Es ist daher anzunehmen, daß auch in den beiden vorhergehenden Versuchen bei den Harnstoffpräparaten die Lähmung nach ungefähr der gleichen Zeit eingetreten war.

Da also die Versuche eine einwandfreie Wirkungsverstärkung des Novocains durch Harnstoff nachwiesen, war es nunmehr von Bedeutung, zu ermitteln, welche Konzentration von Novocain mit Harnstoffzusatz gerade noch die Nervenleitung zu unterbrechen vermochte. Zu dem Zwecke wurden die folgenden Kombinationsversuche mit fortschreitend verdünnten Novocainlösungen angestellt (siehe Tabelle 2).

Tabelle 2.

Versuchsnummer	Versuchstier	Konzentration Novocain	Links	Rechts	
			Novocain allein	Novocain + 2,5 % Harnstoff	zurück in Novocainlösung allein
			Keine Lähmung nach	Lähmung nach	Erholung
69 a	♀ 57 g	0,015 %	28 Std.	weniger als 11 Std.	keine
69 b	♀ 59 „	0,015 %	28 „	„ „ 11 „	„
70 a	♂ 42 g	0,01 %	19 Std.	weniger als 8 Std.	nach etwa 4 Std.
70 b	♂ 47 „	0,01 %	19 „	9 „	„ $^1/_2$ Std.
71 a	♀ 35 g	0,007 %	25 Std.	weniger als 11 Std.	nach etwa $3^1/_2$ Std.
71 b	♂ 45 „	0,007 %	25 „	„ „ 11 „	„ „ $3^1/_2$ „
72 a	♀ 45 g	0,005 %	22 Std.	weniger als 11 Std.	keine
72 b	♂ 43 „	0,005 %	22 „	„ „ 11 „	„
73 a	♂ 34 „	0,005 %	23 „	weniger als $9^1/_2$ Std.	eingetreten (Zeit nicht genau bestimmt)
73 b	♂ 38 „	0,005 %	23 „	„ „ $9^1/_2$ „	eingetreten (Zeit nicht genau bestimmt)
74 a	♀ 41 g	0,002 %	21 Std.	21 Std. nicht eingetreten	—
74 b	♂ 41 „	0,002 %	21 „	$10^1/_2$ Std.	keine
76 a	♀ 48 g	0,001 %	—	13 Std. nicht eingetreten	—
76 b	♂ 50 „	0,001 %	—	13 Std. nicht eingetreten	—

Aus der Tabelle 2 ergibt sich, daß noch Konzentrationen von Novocain 0,005 %, die, allein auf den Nerven gebracht, keine Leitungsunterbrechung mehr verursachen, bei Harnstoffzusatz eindeutige Lähmung hervorbringen. Bei noch niedrigerer Konzentration, z. B. Novocain 0,002 % + Harnstoff 2,5 %, ist eine Lähmung nun nicht mehr bei allen Präparaten zu erzielen. Die unterste Konzentration, durch die bei Harnstoffzusatz

gerade noch bei allen Präparaten trotz unterschiedlicher Empfindlichkeit Leitungsunterbrechung eintritt, wird demnach zwischen 0,005 und 0,002 % Novocain liegen. Da nun als wirksame Grenzkonzentration für Novocain ohne Harnstoffzusatz 0,03 % gefunden wurde, der Harnstoffzusatz jedoch eine ungefähr 10fach schwächere Novocainlösung wirksam macht, so ergibt sich bei diesen Grenzkonzentrationen eine Wirkungsverstärkung durch Harnstoff um fast das 10fache.

Bringt man den durch Novocain + Harnstoff gelähmten Nerven in Ringerlösung, so tritt in allen Fällen Erholung ein. Diese ist vollständig d. h. es werden dieselben Reizschwellenwerte (gemessen am Rollenabstand des Schlitteninduktionsapparates) wie zu Anfang des Versuches wieder erreicht. Zeitlich verläuft die Erholung so, daß wenige Minuten nach dem Eintauchen des gelähmten Nerven in Ringerlösung die Leitfähigkeit für stärkere Reize wiederkehrt. In den ersten Minuten nehmen die Rollenabstände rasch zu. Die Leitfähigkeit für die schwächeren und schwächsten Reize wird jedoch erst spät, nach mehreren Stunden, wieder erreicht. Der Erholungsvorgang verläuft bei den Normal- und Harnstoffpräparaten in der gleichen Weise.

Die Aufhebung der Lähmung bei den Harnstoffpräparaten gelingt aber nicht nur durch Ringerlösung, sondern auch schon dann, wenn die lähmende Kombinationslähmung ersetzt wird durch eine Lösung gleicher Novocainkonzentration, aber ohne Harnstoff (siehe letzte Spalte der Tabelle 2). Dieselbe Novocainkonzentration, die also mit Harnstoff lähmend wirkt, wirkt auf den gleichen gelähmten Nerven erholend bei Entfernung des Harnstoffs. Zwar konnte dieser Effekt nicht immer bei allen Präparaten gezeigt werden, er scheint an einen gewissen Konzentrationsbereich (Grenzkonzentration) geknüpft zu sein. Kontrollversuche im April und Mai dieses Jahres mit Novocain 0,01 % bestätigten jedoch in der Mehrzahl der Versuche den vorher erhobenen Befund.

II. Versuche über Wirkungsbeschleunigung.

Als Grenzkonzentration von Novocain, die gerade in der Mehrzahl der Fälle noch lähmend wirkte, wurde 0,03 % gefunden. Mit dieser, sowie fortschreitend höheren Konzentrationen wurden die in der Tabelle 3 folgenden Versuche angestellt und die Latenz bis zum Eintritt der Lähmung ermittelt.

Es ergibt sich in fast allen Versuchen eine ganz erhebliche Beschleunigung der Novocainwirkung durch Harnstoff, wodurch die Latenz etwa um das 3—5fache verkürzt wird. Im einzelnen zeigt sich, daß die Latenzverkürzung am deutlichsten ist bei den niedrigen Novocainkonzentrationen. Gewiß sind bei den höheren Novocainkonzentrationen einige Versuche, die diesen Effekt nicht zeigen (53a, 54a und 54b), was wohl auf eine besonders hohe Empfindlichkeit der betreffenden Versuchstiere zurückzuführen ist. Einzelne Tiere reagieren auf Novocain 0,06 % oder 0,07 %,

Tabelle 3.

Versuchsnummer	Versuchstier	Konzentration Novocain	Links: Novocain allein — Lähmung nach	Rechts: Novocain + 2,5 % Harnstoff — Lähmung nach
44 a	♀ 46 g	0,03 %	$20^1/_2$ Std. nicht eingetreten	250 Min.
44 b	♀ 36 „	0,03 %	länger als $7^1/_2$ Std.	155 „
45 a	♀ 41 „	0,03 %	„ „ $10^1/_2$ „	210 „
45 b	♀ 39 „	0,03 %	$10^1/_2$ Std. nicht eingetreten	195 „
46 a	♂ 58 g	0,04 %	etwa $11^1/_2$ Std.	240 Min.
46 b	♂ 48 „	0,04 %	7 Std. nicht eingetreten	240 „
48 a	♂ 46 „	0,04 %	länger als 12 Std.	175 „
49 a	♂ 46 „	0,04 %	„ „ 12 „	240 „
49 b	♂ 57 „	0,04 %	12 Std.	200 „
50 a	♂ 53 g	0,05 %	länger als 10 Std.	150 Min.
50 b	♂ 56 „	0,05 %	„ „ 10 „	165 „
51 a	♀ 66 „	0,05 %	„ „ $11^1/_2$ Std.	205 „
51 b	♂ 52 „	0,05 %	$11^1/_2$ Std. nicht eingetreten	145 „
52 a	♀ 43 g	0,06 %	360 Min.	110 Min.
52 b	♂ 60 „	0,06 %	580 „	135 „
53 a	♀ 51 „	0,06 %	145 „	120 „
53 b	♂ 48 „	0,06 %	630 „	160 „
54 a	♀ 44 g	0,07 %	110 Min.	90 Min.
54 b	♀ 41 „	0,07 %	80 „	70 „
55 a	♂ 46 „	0,07 %	355 „	120 „
55 b	♂ 54 „	0,07 %	150 „	85 „
56 a	♂ 54 „	0,07 %	länger als 320 Min.	95 „
56 b	♂ 55 g	0,08 %	245 Min.	82 Min.
57 a	♂ 57 „	0,08 %	520 „	95 „
57 b	♂ 59 „	0,08 %	450 „	100 „

wie andere auf eine Novocainlösung von 0,1 %. Bei dieser tritt die Wirkungsbeschleunigung durch Harnstoff nur noch teilweise hervor: In 5 Versuchen aus der ersten Hälfte des Septembers stimmen die Lähmungszeiten zwischen Harnstoff- und Normalpräparaten fast auf die Minute überein (im Durchschnitt 61 Minuten). Dagegen findet sich in 5 Versuchen aus der zweiten Oktoberhälfte ein deutlicher Unterschied, indem Novocain 0,1 % allein erst nach durchschnittlich 159 Minuten, Novocain 0,1 % + Harnstoff 2,5 % bereits nach durchschnittlich 83 Minuten lähmt. Dies unterschiedliche Verhalten zwischen beiden Versuchsreihen läßt sich durch die Annahme verschiedener Empfindlichkeit der Versuchstiere zu verschiedenen Zeiten erklären. Solche Schwankungen in der Empfindlichkeit an verschiedenen Tagen gibt z. B. L. Zorn [10] an, der als Grenzkonzentration für Novocain (in physiol. Kochsalzlösung, ohne Natr. bicarb.!) bei Rana fusca Werte zwischen 0,25 % und 0,75 % findet. Die Schwankungen treten nach Zorn nur im Sommer auf, nicht dagegen im Winter.

[10] Zorn, L.: Z. exper. Path. u. Ther. **12**, 529 (1913).

In weiteren 12 Versuchen mit Novocainlösungen von 0,1—0,5 % zeigte sich keine Wirkungsbeschleunigung mehr; vielmehr wiesen 11 Versuche einen geringen Unterschied in den Lähmungszeiten auf, der eher an eine Hemmung der Novocainwirkung durch Harnstoff in diesem Konzentrationsbereich denken ließ.

In den bisherigen Versuchen ist die Harnstoffkonzentration konstant gehalten (2,5 %) und nur die Novocainkonzentration variiert worden. Da aber Albrecht [11] und Reich [12] in Versuchen am Herzen und Skelettmuskel des Frosches eine permeabilitätssteigernde Wirkung schon bei 0,1 % Harnstoff sahen, war zu vermuten, daß die beschleunigende Wirkung des Harnstoffs auf die Novocainwirkung auch bei schwächeren Harnstoffkonzentrationen als den bisher verwendeten auftreten würde. Die in Tabelle 4 zusammengestellten Versuche bestätigen diese Vermutung. Novocain 0,05 %, das zur Leitungsunterbrechung etwa 7 Stunden oder mehr braucht, wirkt mit Harnstoffzusätzen von 0,1—2,5 % in wesentlich geringerer Zeit (145—250 Minuten) lähmend.

Tabelle 4.
(Männliche Versuchstiere im Gewicht von 45—53 g.)

Versuchsnummer	Novocain 0,05 % + Harnstoff in %	Lähmung nach
79 a	0,0	länger als 7 Std.
79 b	0,0	etwa 7 Std.
78 a	0,1	weniger als 195 Min.
79 a	0,1	150 Min.
78 a	0,5	weniger als 195 Min.
78 b	1,0	250 Min.
78 b	2,5	weniger als 190 Min.
79 b	2,5	145 Min.

Ergebnisse und Besprechung.

Die mitgeteilten Versuchsergebnisse zeigen einwandfrei eine Wirkungssteigerung des Novocains durch Harnstoff. Am isolierten Froschnerven wurde als lähmende Grenzkonzentration von Novocain hydrochl. (in Ringer gelöst!) 0,03 % gefunden. Ein Harnstoffzusatz von 2,5 % kann eine ungefähr 10fach schwächere Novocainlösung wirksam machen. Somit ergibt sich eine Wirkungsverstärkung des Novocains durch Harnstoff um fast das 10fache.

Novocainlösungen von 0,03—0,1 % erfahren durch Harnstoffzusatz eine mehrfache Wirkungsbeschleunigung. Z. B. lähmt Novocain 0,08 % nach 520 Minuten, Novocain 0,08 % + Harnstoff 2,5 % nach

[11] Albrecht, H.: Inaug.-Diss. Marburg 1935. — [12] Reich, F.: Inaug.-Diss. Marburg 1935.

95 Minuten. Das ist eine Wirkungsbeschleunigung durch Harnstoff um mehr als das 5fache (57a). Novocainlösungen von 0,1 % an aufwärts vermögen an sich schon die Leitfähigkeit des Nerven rasch aufzuheben, so daß die beschleunigende Wirkung des Harnstoffs nicht in Erscheinung tritt. Die Wirkungsbeschleunigung tritt schon bei einem Harnstoffzusatz von 0,1 % auf.

Bei stark verdünnten Novocainlösungen zeigt sich die eigentümliche Erscheinung, daß dieselbe Konzentration, welche mit Harnstoffzusatz einen Nerven lähmt, ohne Harnstoff auf den gleichen gelähmten Nerven erholend wirkt.

Bei dem Versuch, die Ergebnisse zu deuten, müssen die beiden Harnstoffeffekte — Wirkungsverstärkung und Wirkungsbeschleunigung — getrennt besprochen werden.

Betrachtet man die Vorgänge bei der Grenzkonzentration, die gerade noch nach unendlich langer Zeit (praktisch 12—24 Stunden) die Lähmung der Nerven herbeiführt, so ist zu dieser Zeit das statische Gleichgewicht zwischen Novocainkonzentration im Nerven und in der umgebenden Badflüssigkeit als erreicht anzunehmen. Wird diese Grenzkonzentration unterschritten, so tritt die Lähmung nicht mehr ein, da nun die zur Lähmung erforderliche Novocainkonzentration im Nerven nicht mehr erreicht wird. Durch Harnstoffzusatz gelingt aber die Nervenlähmung mit einer Novocainkonzentration, die nur etwa $^1/_{10}$ der lähmenden Grenzkonzentration beträgt. Entweder hat der Harnstoff den Nerven empfindlicher gegen die Giftwirkung gemacht — sensibilisiert —, oder er ermöglicht dem Nerven, aus der umgebenden unterschwelligen Novocainlösung mehr Novocain aufzunehmen, also eine höhere Konzentration zu erreichen als ohne Harnstoffzusatz = Verschiebung des Konzentrationsgleichgewichtes in Richtung des Nerven. Für diese letztere Annahme kann die Tatsache angeführt werden, daß Nerven, die in Novocain + Harnstoff gelähmt wurden, sich in der gleichen Novocainlösung ohne Harnstoff wieder vollkommen erholen können (Tabelle 2, letzte Spalte). Der Erholungsvorgang indessen besteht in einer Diffusion des Narkoticums aus dem Nerven in die umgebende Lösung, setzt also ein Konzentrationsgefälle zwischen Nerv und umgebender Lösung voraus. Andererseits könnte dieser Erholungsvorgang in reiner Novocainlösung auch erklärt werden dadurch, daß nur der Harnstoff als sensibilisierendes Agens aus dem Nerven abdiffundiert, und die im Nerven unverändert zurückgebliebene Novocainmenge nun nicht mehr zur Lähmung hinreicht.

Zur Erklärung der Wirkungsbeschleunigung können ebenfalls diese beiden Möglichkeiten herangezogen werden: Sowohl bei Annahme einer Sensibilisierung des Nerven durch Harnstoff wie auch bei der Annahme einer erhöhten Bindungsfähigkeit des Novocains im Nerven mittels Harnstoff ist es verständlich, daß die eben wirksame Lähmungskonzentration im Nerven bei Harnstoffgegenwart rascher erreicht wird als ohne Harnstoff.

Außerdem kann zur Deutung der Wirkungsbeschleunigung natürlich auch an den bekannten permeabilitätssteigernden Effekt des Harnstoffs gedacht werden, der nach F. Heim eine Folge der gesteigerten Eiweißhydratation, Quellung und Löslichkeitsbegünstigung der Eiweißkörper ist. Diese erhöhte Durchlässigkeit der Zellgrenzschichten würde das schnellere Eindringen des Novocains und den beschleunigten Lähmungseintritt erklären können.

Diese letztere Erklärung auf der Basis der vergrößerten Permeabilität würde jedoch nicht zur Deutung der Wirkungsverstärkung hinreichen. Denn wenn unterschwellige Novocainkonzentrationen durch Harnstoff wirksam werden, so kann als Grund hierfür nicht ein schnelleres Eindringen angeführt werden.

Endlich wäre noch zu denken an eine Änderung der H-Ionenkonzentration durch die Harnstoffgegenwart, die natürlich von entscheidender Bedeutung wäre für die Intensität einer gegebenen Novocainhydrochloridlösung. Unseres Erachtens kommt dieses Moment jedoch nicht in Frage, da die entscheidenden Kombinationseffekte mit Harnstoff schon auftreten bei einer Konzentration von 0,1 % Harnstoff und andererseits nach den Angaben von Ch. E. Fawsitt[13] reine Harnstofflösungen ($^1/_{32}$ molar = etwa 0,2 %) eine Leitfähigkeit haben, die sich von der des reinen Wassers kaum unterscheidet. Nach Walker und Wood[14] ist die Dissoziationskonstante des Harnstoffs bei 25° $1{,}5 \cdot 10^{-14}$.

Wir kennen zur Zeit keine physikalische oder chemische Eigenschaft des Harnstoffs, die alle beschriebenen Erscheinungen befriedigend erklären könnte.

Zusammenfassung.

1. Am Nervmuskelpräparat von Rana temporaria wird der Einfluß des Harnstoffs auf die Wirkung von Novocain geprüft.

2. Harnstoff verursacht eine Wirkungsverstärkung des Novocains bei Grenzkonzentrationen um fast das 10fache.

3. Sehr schwache Novocainlösungen wirken mit Harnstoffzusatz lähmend, ohne Harnstoff auf den gleichen gelähmten Nerven erholend.

4. Harnstoff verursacht in einem bestimmten Konzentrationsbereich des Novocains eine mehrfache Wirkungsbeschleunigung.

5. Harnstoffzusätze von 2,5– 0,1 % haben den gleichen Effekt in bezug auf die Wirkungsbeschleunigung des Novocains.

[13] Fawsitt, Ch. E.: Proc. Roy. Soc. Edinb. **25**, 51 (1904), zit. nach Rona in Abderhaldens Biochem. Handlexikon, **4**, 769 (1911). — [14] Walker u. Wood: Proc. Chem. Soc. **19**, 67 (1903), zit. nach Rona.

41/B212

COUNTWAY LIBRARY
HC 6EB3

J. HOLZER
BINDER
BOSTON, MASS.